Aus der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt München.

Die Bedeutung der Tierindividualität und einiger anderer Faktoren für die spezifischen Qualitäten der Paratyphus-B-Antisera.

INAUGURAL-DISSERTATION

von

Albert Keck

München 1913.
Druck von R. Oldenbourg.

Aus der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt München.

Die Bedeutung der Tierindividualität und einiger anderer Faktoren für die spezifischen Qualitäten der Paratyphus-B-Antisera.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der gesamten Medizin

verfaßt und einer

hohen medizinischen Fakultät der

K. Bayer. Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Albert Keck

aus Augsburg.

ACAD. LUGD BAT. BIBL.

München 1913.

Druck von R. Oldenbourg.

Gedruckt mit Genehmigung der Universität München.

Referent: Herr Obermedizinalrat Professor Dr. M. v. Gruber.

Die Bakterien der Typhus-Koli-Gruppe werden bekanntlich von andern morphologisch gleichen Stäbchen und untereinander auf Grund ihres kulturellen Verhaltens und mit Hilfe der spezifischen Agglutination unterschieden.

Der Ausfall der Agglutinationsprobe darf aber nur mit Vorsicht verwertet werden. Der negative Ausfall der Probe beweist nicht unter allen Umständen, daß die betreffenden Bakterien der homologen Art nicht angehören.

Ist es doch eine bekannte Tatsache, daß in manchen Fällen frisch isolierte Typhus- usw. Bakterien zunächst nicht agglutinierbar sind, diese Fähigkeit aber nach einigen Umzüchtungen erlangen.

Es liegen ferner verschiedene Beobachtungen vor, daß einwandfreie Paratyphus-B.-Stämme durch einwandfreie Paratyphus-B.-Seren dauernd nicht agglutiniert wurden und so bei der Identifizierung Schwierigkeiten bereiteten. Dies ist von einigen Autoren Loghem (1), Rimpau (2) (3), Schern (4) hervorgehoben worden und aus den Arbeiten anderer Autoren, Sobernheim und Seligmann (5), Stromberg (6) nachträglich festzustellen.

Auf die hohe Bedeutung dieses Versagens der Agglutination für die Seuchenbekämpfung hat zuerst Rimpau (3) hingewiesen.

Kann es doch vorkommen, daß wegen Ausfalls der Agglutination die Diagnose eines Krankheitserregers nicht gestellt wird, obwohl derselbe tatsächlich gefunden worden ist. Auf diese Weise kann der Verbreitung der Krankheit direkt Vorschub geleistet werden. Im entgegengesetzten Fall aber kann durch die trotz Fehlens der Agglutination gestellte positive Diagnose der Kranke oder seine Umgebung empfindlich geschädigt werden, da ja auf Grund der bakteriologischen Diagnose Bekämpfungsmaßnahmen ergriffen werden.

Der gleiche Autor hat deshalb die Agglutinationsverhältnisse hinsichtlich der Pa.-B.-Bazillen einer eingehenden Untersuchung an einem großen Material von Pa.-B.-Stämmen und Pa.-B.-Seren unterzogen. In dieser ist es ihm gelungen, Stämme, welche nach der bisherigen Methode (Verwendung nur eines Serums) als inagglutinabel gelten mußten, durch Verwendung mehrerer Seren auch serologisch durch Agglutination einwandfrei als Pa.-B. zu diagnostizieren. Freilich sind auch durch diese Untersuchung die Verhältnisse zwischen Pa.-B.-Seren und -Stämmen nicht restlos geklärt. Die zunächst unerklärlichen Ergebnisse können nach Rimpau (3) bedingt sein durch die Eigenschaften des zur Immunisierung benutzten Bakterienstammes, durch Besonderheiten des immunisierten Tieres (und damit des Serums) oder durch Eigentümlichkeiten des zur Untersuchung genommenen Bakterienstammes. Die bisherigen Arbeiten hatten nur den zur Immunisierung benutzten Stamm und den untersuchten Stamm zur Grundlage ihrer Untersuchungen gemacht. Über die Bedeutung der Eigenschaft des immunisierten Tieres hingegen sind bisher keine systematischen Untersuchungen angestellt worden. Es ist allerdings bekannt, daß bei Immunisierung verschiedener Tiere der gleichen Art mit demselben Stamm und bei derselben Immunisierungsweise Sera erzielt werden, deren Titer außerordentlich verschieden hoch sind [Madsen (7)]. Bezüglich der Bedeutung der Tierindividualität für Unterschiede auch in quantitativer Wirksamkeit von Pa.-B.-Seren gegenüber Pa.-B.-Stämmen liegen aber bisher nur gelegentliche Beobachtungen vor.

Kutscher und Meinicke (8) haben mit zwei Seren, welche mit demselben Stamm (Löffler scher Mäusetyphus-

bazillen) hergestellt waren, an einer größeren Reihe von Pa.-B.-Stämmen ein etwas abweichendes Verhalten beobachtet; sie erklären diese Erscheinungen nach der Ehrlichschen Theorie durch einen verschiedenen Rezeptorenbau beider Tiere, gehen aber auf die praktische Bedeutung der Beobachtung nicht näher ein. Bei anderen Serenpaaren scheinen sie eine entsprechende Beobachtung nicht gemacht zu haben (Tabellen über diese Untersuchungen fehlen); die Autoren sagen nur, daß die Agglutinationsunterschiede sich in minimalen Grenzen bewegten.

Trommsdorff [9] immunisierte bei seinen Untersuchungen über Mäusetyphus- und verwandte Bazillen zwei Kaninchen mit demselben Pa.-B.-Stamm. Diese beiden Sera zeigten gegenüber einem anderen sicheren Pa.-B.-Stamm ein gänzlich verschiedenes Verhalten: das eine Serum agglutinierte ihn bis zur Titerhöhe, das andere Serum überhaupt nicht. Trommsdorff sah sich infolgedessen veranlaßt, der Tierindividualität eine große Bedeutung zuzumessen. In einer späteren Arbeit [10] drückte er sich aber darüber unbestimmter aus: er meint, es gebe in bezug auf Tierindividualität, Agglutininbildungs- und Bindungsverhältnisse noch Rätsel genug.

Bei der Wichtigkeit dieser Erscheinungen schien eine Neubearbeitung der einschlägigen Fragen angezeigt. Herr Direktor Dr. Rimpau gab mir deshalb den Auftrag, die von ihm im Archiv für Hygiene, Bd. 76, veröffentlichten Untersuchungen über die Unzuverlässigkeit der Agglutinationsreaktion bei der Diagnose der Pa.-B.-Bazillen fortzusetzen, besonders in Hinsicht auf die Frage nach der Bedeutung der Tierindividualität. Diese Untersuchungen wurden in der Zeit von Mitte Oktober bis Ende Februar unter der ständigen Kontrolle von Herrn Direktor Dr. Rimpau ausgeführt.

Stämme und Sera.

Mein Material besteht aus einer Sammlung von Pa.-B.-Stämmen und Pa.-B.-Seren.

Die 34 Pa.-B.-Stämme sind dieselben, die von Rimpau zu obengenannten Untersuchungen verwendet wurden. Es sind

mit Absicht dieselben Stämme gewählt worden, da sie aus verschiedenen Gegenden und sowohl von Kranken, die wieder verschiedene Krankheitsformen zeigten, als von Gesunden stammen. Ferner, weil sie in langen Zeiträumen sowohl serologisch genau geprüft als auch in ihrem kulturellen Verhalten stets kontrolliert worden sind. Es ist dies von erheblichem Vorteil, da die Einblicke, die man in die Agglutinabilität dieser Bakterien bekommt, dadurch an Sicherheit gewinnen.

Die Sammlung zeichnet sich besonders dadurch aus, daß sie Stämme enthält, die sich serologisch sehr verschieden verhalten; so bereiteten einzelne Stämme der serologischen Identifizierung mit den angewandten Seren anfangs geradezu unüberwindliche Schwierigkeiten. Andere waren mit den angewandten Seren leicht und schwerer agglutinabel.

Fundort und bisherige Züchtung sind in Rimpaus Arbeit niedergelegt. Es erübrigt für mich nur kurz die wichtigsten Tatsachen noch einmal anzugeben.

Vier dieser Stämme konnten ursprünglich nur als „Paratyphusverwandt" diagnostiziert werden, „da sie sich kulturell und morphologisch als Paratyphus erwiesen, mit den angewandten Pa.-B.-Seren aber nicht oder nur sehr gering agglutinierten". (Rimpau [3], Seite 320.)

Es sind dies folgende Stämme:

1. Stamm 28 Sch. Aus dem Stuhl eines an Dyspepsie leidenden Kindes.

2. Stamm 21 S. Aus dem Stuhl eines Erwachsenen mit länger dauerndem Durchfall.

3. Stamm 6. Aus dem Stuhl eines Kindes, das auf Milchzufuhr stets blutige Stühle bekam.

4. Stamm 5. Aus dem Stuhl dessen Vaters, der häufig an Diarrhöen litt.

Stamm 28, 6 und 5 wurden ebenso wie andere 28 Stämme der Sammlung im Laufe der letzten zwei Jahre in der Kgl. bakteriologischen Untersuchungsanstalt in München gefunden. Stamm 21 wurde von Herrn Dr. Mandelbaum gezüchtet und zur Ver-

fügung gestellt; die übrigen zwei Stämme wurden von Rimpau vor mehreren Jahren bei Personen des Anstaltsgebietes Hagenau im Elsaß gefunden.

Die Stämme sind mit Ausnahme eines einzigen aus menschlichem Stuhl und Urin von Kranken und Gesunden gezüchtet. Dieser eine (Nr. 35) stammt „aus dem Fleisch eines schweinepestkranken Schweines, dessen Genuß in einer Familie Fleischvergiftungserkrankungen hervorgerufen hat.“ (Rimpau (3), S. 322.)

Durch die Untersuchungen Rimpaus konnten, wie oben bereits hervorgehoben wurde, alle diese 34 Stämme auch serologisch einwandfrei als echte Pa.-B.-Stämme identifiziert werden. Selbstverständlich waren auch die morphologischen und kulturellen Eigenschaften derselben geprüft worden; sie stimmten mit denen überein, die wir von Pa.-B.-Kulturen verlangen.

Die Stämme waren im Juni 1912 zum letztenmal auf Schrägagar verimpft worden. Mitte Oktober begannen die vorliegenden Untersuchungen. Um die Reinheit der Stämme zu prüfen, wurden sie sofort über Drigalski-Conradi-Platten und über gewöhnliche Agarplatten geschickt. Auch später wurde auf ihre Reinhaltung die größte Sorgfalt verwendet; zwischen den einzelnen Agglutinationsversuchen wurden die Stämme noch einige Male über blaue Platten geschickt und auch sonst ihre Reinheit in Grampräparaten und im hängenden Tropfen überwacht.

Um überraschende Zufälligkeiten zu vermeiden, wurde das morphologische und kulturelle Verhalten bei Beginn unserer Untersuchungen nochmals untersucht. Zur Untersuchung der morphologischen Eigenschaften wurde die Betrachtung in Grampräparaten und im hängenden Tropfen angewandt. Alle Bakterien waren gram-negative Stäbchen. Im allgemeinen fiel auf, daß zumeist sehr kurze Formen zu Gesicht kamen. Nur drei Stämme, auf die wir in diesem Abschnitt noch mehrmals zurückkommen werden, nämlich Stamm 1, 4 und 9, bestanden aus längeren und namentlich auch feineren Formen.

Im hängenden Tropfen erhielten wir Aufschluß über Beweglichkeit; zur Untersuchung wurden nach dem Vorgang von Kutscher und Meinicke (8) 10 bis 14 stündige Agarkulturen ver-

wandt, die in physiologischer Kochsalzlösung verrieben wurden Die Beweglichkeit war durchwegs sehr gut, wie wir sie bei Pa.-B.-Bazillen gewöhnt sind. Wurden bei dem einen oder anderen Stamm zuerst Unterschiede in der Beweglichkeit gefunden, so konnten sie doch bei mehrmaliger Untersuchung der nämlichen und anderer Agarkulturen nicht aufrechterhalten werden. Ein etwas auffälliges Verhalten zeigten einzig wieder die Stämme 1, 4 und 9. Bei guter Beweglichkeit fiel auf, daß die feinen, etwas längeren Bazillen vielfach nebeneinander oder in Büscheln locker zusammenlagen und sich so geradlinig fortbewegten oder daß die ganzen Büschel sich drehten. Der Eindruck einer Spontanagglutination wurde dadurch aber nicht erweckt.

Kulturell verhielten sich alle Stämme auf der Drigalski-Conradi-Platte insofern gleich, als sie keine Säure bildeten. Die Mehrzahl bildete blaue, kleine, durchsichtige, homogene, glattrandige Kolonien, die später einen bläulichweißen Schimmer annahmen. Wallbildung konnte bei den meisten beobachtet werden. Wiederum unterschieden sich die Stämme 1, 4 und 9 von den anderen. Ihre Kolonien waren „größere aufgefaserte, weinblattförmige Scheiben". Baerthlein [11] beschrieb bereits diese Kolonieform und fand, daß sie von „längeren, schlankeren Bazillen gebildet wurde". Dieses Verhalten trifft auch bei unseren Stämmen 1, 4 und 9 zu.

Nach Baerthlein treten beide Formen nebeneinander als Mutationen auf. Dies konnten wir in unserem Falle nicht beobachten.

Stets waren bei diesen Stämmen nur Kolonien der großen Form zu finden. Und wenn ich schon glaubte, einzelne kleine, durchsichtige gefunden zu haben, so waren nach 24 Stunden auch diese zu den großen, aufgefaserten, weinblattförmigen geworden. Es war denkbar, daß ursprünglich nur diese Form abgestochen und durch rasche Impfungen Abänderungen vermieden wurden, was Baerthlein angibt. Es wurde deshalb auf die Ausgangskulturen vom Juni 1912 zurückgegriffen. Es zeigten sich aber auch jetzt wieder nur die großen Formen. Auf gewöhnlichem Agar war der Unterschied der Kolonieform dieser drei Stämme von den anderen in gleicher Weise vorhanden.

Weber und Händel[12] verlangen für die Abgrenzung der einzelnen Gruppen der Typhus-Koli-Gruppen die Prüfung verschiedener Differentialnährböden, „außer den Löffler-schen Grünlösungen, Milch, Lackmusmolke, Neutralrotagar, Orcein-agar, Traubenzucker-, Milchzucker-Bouillon, die Nährlösungen nach Hetsch, Barsiekow I und II.“ Von der Verwendung der Milch wurde aus Gründen abgesehen, die in Rimpaus Arbeit erörtert sind.

Das Ergebnis der kulturellen Prüfung war das für Pa.-B.-Bazillen charakteristische Wachstum in allen Nährböden bei sämtlichen Stämmen. Der Umschlag der Lackmuslösung in Blau — es wurde Seitzsche Nährflüssigkeit verwendet — erfolgte im allgemeinen nach 2 bis 4 Tagen [Seiffert-Wymer[13]]. Es wird nicht überraschen, daß bei Stamm 1, 4 und 9 wiederum Unterschiede bestehen. Die Traubenzucker-bouillon wird zwar ebenso stark vergoren, die Flüssigkeit wird aber nicht getrübt, die Bakterien sammeln sich als dicker Bodensatz. In Seitzscher Nährlösung tritt ebenfalls keine Trübung und der Umschlag nach Blau erheblich später auf, bei 4 und 9 meist am 6., bei Stamm 1 am 7. bis 8. Tag. In Kahl-baums Lackmusmolke — nur bei diesen drei Stämmen geprüft — erfolgt der Umschlag durchschnittlich zwei Tage früher. Auch andere (Sobernheim und Seligmann[5], Baerth-lein[11]) beobachteten solche zeitliche Schwankungen im Um-schlag nach Blau.

Die Sera, mit denen die Stämme agglutiniert wurden, bestehen 1. aus älteren von Rimpau verwendeten und 2. aus solchen, welche erst von mir durch Immunisierung von Kaninchen ge-wonnen wurden.

1. Von den ersteren habe ich vier wiederum benutzt; es sind dies einmal das Hog-Cholera-Eselserum aus dem K. G. A. mit dem Titer $^1/_{20000}$, ferner drei mittels Stämmen der Sammlung an Kaninchen im Frühjahr 1912 frisch hergestellte Pa.-B.-Sera, nämlich:

1. St. 3 Sp. Kaninchenserum (VI. von Rimpau) Titer $^1/_{8000}$.

2. St. 21 S. Kaninchenserum (V. von Rimpau) Titer $^1/_{8000}$.

3. St. 28 Sch. Kaninchenserum (IV. von Rimpau) Titer $^1/_{8000}$.

Ihre Verwendung erfolgte zur Kontrolle der Konstanz der früher gefundenen Agglutinabilität der Stämme und ergab, wie sich später herausstellte, wertvolle Aufschlüsse über die Veränderung der Sera bei längerer Aufbewahrung.

2. Die Herstellung neuer Sera lag im Plan der Arbeit begründet. Für die Auswahl des Stammes, mit dem die Immunisierung erfolgen sollte, waren die früheren Erfahrungen Rimpaus maßgebend. Er hatte gefunden, daß die Immunisierung mit einem gut agglutinablen Stamme (St. 3 Sp.) zu einem Serum führte, das alle Stämme, wenn auch nicht mit gleicher Geschwindigkeit, hoch agglutinierte, daß anderseits mit den zwei Stämmen St. 21 S. und St. 28 Sch., die bei Prüfung mit einigen Seren sich als schwer agglutinabel gezeigt hatten, Sera erzielt wurden, welche stets nur einen Bruchteil der Stämme genügend beeinflußten. Es ist denkbar, daß im ersteren Fall mit Stamm 3 Sp. dadurch ein allgemein wirksames Serum erzielt wurde, daß der verwendete Pa.-B.-Stamm eine Vielheit von Agglutinogenen enthält und dementsprechend auch eine Vielheit von Agglutininen gebildet wird [v. Dungern[14]), Eisenberg und Volk[15])]; die ihrerseits nun auch auf verschieden geartete Pa.-B.-Bazillen einwirken können. Ebenso kann angenommen werden, daß einer geringeren Zahl von Einzelantigenen bei den Bakterien der anderen zwei Stämme auch eine geringere Zahl von Agglutininen in den Seren entspricht und infolge davon eine geringere Reichweite derselben. Die „Reichweite" eines Serums wird ausgedrückt durch die Zahl der Pa.-B.-Stämme, welche es agglutinatorisch hoch zu beeinflussen vermag.

Man kann sich vorstellen, daß bei Immunisierung einer Mehrzahl von Tieren mit sogenannten gut agglutinablen Stämmen Sera erzielt werden, bei denen infolge ihrer Reichhaltigkeit an verschiedenen Agglutininen nur durch die Prüfung mit sehr vielen Pa.-B.-Stämmen Unterschiede in ihrem Agglutinationsver-

mögen nachgewiesen werden können. Anderseits kann erwartet werden, daß bei Immunisierung von verschiedenen Tieren mit Stämmen, welche Sera von geringer Reichweite liefern, schon bei der Prüfung der Sera mit wenigen Stämmen von Pa.-B.-Bazillen individuelle Unterschiede hervortreten werden.

Als solche Stämme waren die Stämme 21 S. und 28 Sch. erkannt worden; beide Stämme gaben Sera, die nur einen Teil der geprüften Stämme zur Agglutination zu bringen vermochten — und zwar ein jeder — zum Teil wenigstens — andere. Eine Wahl zwischen beiden Stämmen war schwer, und so wurden denn — auch im Interesse einer breiteren Basis für die Beurteilung der Resultate — beide Stämme in gleicher Weise zur Immunisierung herangezogen.

Mit der Verwendung gerade dieser Stämme war auch noch der große Vorteil verbunden, daß je ein älteres auf Eis aufbewahrtes Serum von beiden Stämmen zur Verfügung stand und mit den frisch hergestellten verglichen werden konnte.

Diese alten mit Stamm 21 S. und 28 Sch. hergestellten Sera waren in der Weise gewonnen, daß interavenös ¼, ½ und 1 Kultur durch Erwärmen auf 60° eine Stunde lang abgetötete Bazillen injiziert wurden. „Von der Anwendung lebender Kulturen zur Immunisierung wurde abgesehen, da die ausführlichen Untersuchungen von Sobernheim und Seligmann erwiesen hatten, daß bei der Herstellung von agglutinierenden Pa.-B.-Seren es wenig darauf ankommt, ob lebende oder abgetötete Kulturen angewandt werden.“ [Rimpau (3), Seite 323.]

In enger Anlehnung an diese Technik wurden zuerst einige Kaninchen behandelt. Alle Tiere gingen dabei rasch zugrunde, wohl infolge davon, daß kleine, jüngere Tiere benutzt wurden. Wir gingen daher dazu über, die Immunisierung mit kleineren Dosen und schwereren Tieren vorzunehmen.

Zunächst wurden je zwei Tiere mit jedem der zwei Stämme behandelt. Im folgenden gebe ich Verlauf und Ergebnis der Immunisierung.

1. Kaninchen 183 (Stamm 21 S.).

31. 10. Injektion $^1/_{20}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
5. 11. Injektion $^1/_{15}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.

9. 11. Erste Probeentnahme Agglutination 1 : 200 nach 2 Stunden.
11. 11. Injektion $^1/_{10}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
14. 11. Zweite Probeentnahme Agglutination $^1/_{2000}$ nach 2 Stunden.
16. 11. Injektion $^1/_5$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
20. 11. Dritte Probeentnahme Agglutination $^1/_{16\,000}$ nach 2 Stunden.
Entnahme von ca. 20 ccm. Blut.

2. Kaninchen 190 (St. 21 S.).

31. 10. Injektion $^1/_{20}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
5. 11. $^1/_{20}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
9. 11. Erste Probeentnahme Agglut. 1 : 400 nach 2 Stunden.
11. 11. Injektion $^1/_{15}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
14. XI. Zweite Probeentnahme Aggl. 1 : 1000 nach 2 Stunden.
16. 11. Injektion $^1/_{10}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
20. 11. Dritte Probeentnahme Aggl. 1 : 16 000 nach 2 Stunden.
Entnahme von ca. 20 ccm Blut.

3. Kaninchen 34 (St. 28 Sch.).

31. 10. Injektion $^1/_{20}$ Öse bei 60° abgetötet.
5. 11. Injektion $^1/_{15}$ Öse bei 60° abgetötet.
9. 11. Erste Probeentnahme Aggl. 1 : 200 in 2 Stunden.
11. 11. Injektion $^1/_{10}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
14. 11. Zweite Probeentnahme Aggl. 1 : 1000 nach 2 Stunden.
16. 11. Injektion $^1/_5$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
20. 11. Dritte Probeentnahme Aggl. 1 : 16 000 nach 2 Stunden.
Entnahme von ca. 20 ccm Blut.

4. Kaninchen 27 (St. 28 Sch.).

31. 10. Injektion $^1/_{20}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
5. 11. Injektion $^1/_{20}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
9. 11. Erste Probeentnahme Aggl. 1 : 200 nach 2 Stunden.
11. 11. Injektion $^1/_{15}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
14. 11. Zweite Probeentnahme Aggl. 1 : 400 nach 2 Stunden.
16. 11. Injektion $^1/_{10}$ Öse 1 Std. bei 60° abgetötet.
20. 11. Dritte Probeentnahme Aggl. 1 : 500 nach 2 Stunden.
21. 11. Injektion 1 Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
27. 11. Injektion 6 Ösen 1 Stunde bei 60° abgetötet.
30. 11. Injektion 12 Ösen 1 Stunde bei 60° abgetötet.
5. 12. Vierte Probeentnahme Aggl. 1 : 16 000 nach 2 Stunden.
6. 12. Plötzlicher Tod des Tieres, Entnahme von Herzblut. Aggl. 1 : 16 000 nach 2 Stunden.

Die Agglutination mit Serum von Kaninchen 34 lieferte, wie im speziellen Teil näher ausgeführt werden wird, ein überraschendes Resultat (siehe Seite 30). Eine Immunisierung weiterer Tiere schien daher geboten. Diese erfolgte wiederum an vier Kaninchen. Alle vier Tiere zeigten die gemeinsame Eigenschaft, nur langsam hochwertige Sera zu liefern.

5. Kaninchen 173 (St. 21 S.).

27. 11. Injektion $^1/_{20}$ Öse bei 60° nach 1 Stunde abgetötet.
30. 11. Injektion $^1/_{15}$ Öse bei 60° nach 1 Stunde abgetötet.
5. 12. Injektion $^1/_5$ Öse bei 60° nach 1 Stunde abgetötet.
9. 12. Erste Probeentnahme: Aggl. 1 : 800 nach 2 Stunden.
10. 12. Injektion ½ Öse bei 60° nach 1 Stunde abgetötet.
16. 12. Zweite Probeentnahme: Aggl. 1 : 1000 nach 2 Stunden.
20. 12. Dritte Probeentnahme: Aggl. 1 : 1000 nach 2 Stunden.

Weil inzwischen das Tier an Gewicht eingebüßt hatte, wurde die Immunisierung erst wieder fortgesetzt, nachdem sich das Tier wieder erholt hatte.

30. 12. Injektion 1 Öse nach 1 Stunde bei 60° abgetötet.
3. 1. Vierte Probeentnahme Aggl. 1 : 2000 nach 2 Stunden.
3. 1. Injektion 3 Ösen 1 Stunde bei 60° abgetötet.
10. 1. Fünfte Probeentnahme Aggl. 1 : 8000 nach 2 Stunden.
13. 1. Sechste Probeentnahme Aggl. 1 : 10 000 nach 2 Stunden.
14. 1. Entblutung des Tieres.

6. Kaninchen „schwarz" (St. 21 S.)

27. 11. Injektion $^1/_{20}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
30. 11. Injektion $^1/_{15}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
5. 12. Injektion $^1/_5$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
9. 12. Erste Probeentnahme: Aggl. 1 : 2000 nach 2 Stunden.
10. 12. Injektion ½ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
16. 12. Zweite Probeentnahme Aggl. 1 : 32 000 nach 2 Stunden. Titersturz des aufbewahrten Serums bei Titrierung am 19. 12. auf 1 : 1000.
20. 12. Dritte Probeentnahme Aggl. 1 : 16 000 nach 2 Stunden. Wiederum erfolgte Titersturz des aufbewahrten Serums auf $^1/_{1000}$ (Titrierung am 22. 12). Die Fortsetzung der Immunisierung war wegen verminderter Freßlust und Gewichtsabnahme des Tieres zunächst unmöglich. Da die entnommenen Sera nach einigen Tagen einen so großen Titersturz gezeigt hatten, wurde die Immunisierung nach Erholung des Tieres am 30. 12. fortgesetzt.

30. 12. Injektion 1 Öse bei 60° nach 1 Stunde abgetötet.
3. 1. Vierte Probeentnahme Aggl. 1 : 4000 nach 2 Stunden.
3. 1. Injektion von drei Ösen bei 60° abgetötet.
10. 1. Fünfte Probeentnahme: Aggl. 1 : 16 000 nach 2 Stunden.
14. 1. Sechste Probeentnahme: Aggl. 1 : 32 000 nach 2 Stunden. Entblutung des Tieres.

7. Kaninchen 42 (St. 28 Sch.).

27. 11. Injektion $^1/_{20}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
30. 11. Injektion $^1/_{15}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
5. 12. Injektion $^1/_5$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
9. 12. Erste Probeentnahme Aggl. 1 : 1000 nach 2 Stunden.
10. 12. Injektion ½ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.
16. 12. Zweite Probeentnahme 1 : 8000 Aggl. nach 2 Stunden. Titersturz des aufbewahrten Serums auf $^1/_{1000}$. (Titrierung am 19. 12.)

20. 12. Dritte Probeentnahme Aggl. 1 : 16 000 nach 2 Stunden. Titersturz des aufbewahrten Serums auf $^1/_{1000}$. (Titrierung am 21. und 23. 12.) Verminderte Freßlust, Gewichtsabnahme des Tieres, Fortsetzung der Immunisierung nach Besserung.

30. 12. Injektion 1 Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.

3. 1. Vierte Probeentnahme Aggl. 1 : 4000 nach 2 Stunden.

3. 1. Injektion 3 Ösen 1 Stunde bei 60° abgetötet.

10. 1. Fünfte Probeentnahme Aggl. 1 : 8000 nach 2 Stunden.

14. 1. Sechste Probeentnahme Aggl. 1 : 10 000 nach 2 Stunden.

14. 1. Entblutung des Tieres.

8. Kaninchen 80 (St. 28 Sch.).

27. 11. Injektion $^1/_{20}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.

30. 11. Injektion $^1/_{15}$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.

5. 12. Injektion $^1/_5$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.

9. 12. Erste Probeentnahme Aggl. 1 : 1000 nach 2 Stunden.

10. 12. Injektion $^1/_2$ Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.

16. 12. Zweite Probeentnahme Aggl. 1 : 8000 nach 2 Stunden.

20. 12. Dritte Probeentnahme Aggl. 1 : 4000 nach 2 Stunden.

Beide Sera zeigten Titersturz auf $^1/_{1000}$ (Titrierung am 19. 12. bzw. am 21. und 23. 12.). Freßlustverminderung und Gewichtsabnahme des Tieres. Fortsetzung der Immunisierung nach Besserung.

30. 12. Injektion 1 Öse 1 Stunde bei 60° abgetötet.

3. 1. Vierte Probeentnahme Aggl. 1 : 2000 nach 2 Stunden.

3. 1. Injektion 3 Ösen 1 Stunde bei 60° abgetötet.

10. 1. Fünfte Probeentnahme Aggl. 1 : 2000 nach 2 Stunden.

14. 1. Sechste Probeentnahme Aggl. 1 : 10 000 nach 2 Stunden.

14. 1. Entblutung des Tieres.

Zu erwähnen ist noch, daß sämtliche Tiere der gewöhnlichen im Laboratorium verwendeten Rasse von Kaninchen angehörten.

Wie aus den Immunisierungsprotokollen hervorgeht, ist bei den Tieren Nr. 183, 190, 34 und 27 fortlaufend immunisiert worden, während bei den Tieren „Schwarz“ Nr. 173, 42 u. 80 trotz erhaltenen hohen Titers infolge des beobachteten Titersturzes, aus Furcht kein gutes Serum zu erhalten, erst nach einer durch den Zustand der Tiere erzwungenen Pause weiter immunisiert wurde. Wenn auch die Tiere der beiden Immunisierungsperioden nicht in gleicher Weise immunisiert wurden, so hat dieser Umstand keinen Einfluß auf die Beschaffenheit der Seren gehabt; denn die Seren der beiden Immunisierungsgruppen zeigen, wie ein Durchblick der Tabellen ergibt, dasselbe Verhalten ohne prinzipiellen Unterschied.

Deshalb werden in den späteren Kapiteln die Sera nur mit Rücksicht auf den zur Immunisierung benutzten Stamm gruppiert.

Es kamen somit folgende acht neuhergestellte Sera zur Verwendung, und zwar aus der 1. Immunisierungsperiode:

1. Kaninchenserum 183 hergestellt mit Stamm 21 S. Titer $^1/_{4000}$.
2. Kaninchenserum 190 hergestellt mit Stamm 21 S. Titer $^1/_{2000}$.
3. Kaninchenserum 34 hergestellt mit Stamm 28 Sch. Titer $^1/_{8000}$.
4. Kaninchenserum 27 hergestellt mit Stamm 28 Sch. Titer $^1/_{8000}$.

aus der 2. Immunisierungsperiode:

5. Kaninchenserum 173 hergestellt mit Stamm 21 S. Titer $^1/_{8000}$.
6. Kaninchenserum „Schwarz", hergestellt mit Stamm 21 S. Titer $^1/_{8000}$.
7. Kaninchenserum 42 hergestellt mit Stamm 28 Sch. Titer $^1/_{8000}$.
8. Kaninchenserum 80 hergestellt mit Stamm 28 Sch. Titer $^1/_{8000}$.

Die angegebenen Titer stellten den Durchschnittswert der in den drei Untersuchungsreihen mit dem homologen Stamm gewonnenen Agglutinationshöhen vor.

Über den Zeitpunkt der Verwendung und ihre Vorbehandlung der Sera ist folgendes anzugeben. Die drei Sera 183, 190 und 34 der ersten Immunisierungsgruppe wurden einmal frisch zwei Tage nach der Entnahme des Blutes ohne Karbolsäurezusatz in einer Versuchsreihe mit allen 34 Stämmen zur Agglutination verwendet. Serum 27, ebenfalls aus der ersten Immunisierungsgruppe, das aber erst später gewonnen wurde, kam gleichfalls zwei Tage nach der Gewinnung frisch ohne Karbolsäurezusatz mit allen Stämmen zur Verwendung. In diesen Agglutinationsreihen war der Titer gegen den homologen Stand niedriger als am Tage der Blutentnahme (von $^1/_{16000}$ auf $^1/_{8000}$ bzw. $^1/_{4000}$). Nach der ersten Untersuchung wurden diese vier Sera mit Phenol (½ proz.) versetzt und diese karbolisierten Sera dann innerhalb der nächsten drei Wochen in weiteren zwei Versuchsreihen mit allen Stämmen zur Agglutination verwendet. Nach der Karbolisierung trat nur bei Serum 190 und 183 ein weiterer Titersturz auf; dieser war geringer als der erste. Die Erniedrigung des Titers konnte nicht nur gegenüber dem eigenen, sondern auch gegenüber

den meisten der übrigen 33 Stämme festgestellt werden. Es gab aber auch Stämme, für die der Titer gleichblieb. Bei den Seren 27 und 34 trat nach der Karbolisierung kein weiterer Titersturz auf. Aus gelegentlichen Austitrierungen aller dieser vier Sera mit den eigenen Stämmen im Januar und Februar, also nach 2 bis 3 Monaten geht hervor, daß der in der letzten Agglutinationsreihe beobachtete Titer konstant auf derselben Höhe geblieben war.

Etwas anders verhielten sich die Sera der zweiten Gruppe. Bei der Entblutung am 14. I. hatten sie den Titer 10 000 bis 32 000; ohne Phenolzusatz aufbewahrt, hatten sie 2 bis 3 Tage später geprüft, nur noch den Titer bis höchstens 1 zu 1000. Ihre Verwendung zur Agglutination war also zunächst unmöglich. Die Sera wurde nun zum Teil mit Karbolsäure, zum Teil mit kleinen Thymolkristallen versetzt. Dann wurden sie im Eisschrank aufbewahrt. Nach zwei Wochen trat, wie in mehrfach ausgeführten Austitrierungen mit dem homologen Stamme beobachtet werden konnte, ein allmählicher Anstieg des Titers ein, und zwar gleichmäßig bei den mit Phenol wie bei den mit Thymol konservierten Seren, so daß nach drei Wochen, also anfangs Februar, der Titer eines jeden Serums den Wert $^1/_{8000}$ erreichte und die Durchführung der Agglutination wieder möglich war.

Dieser Titersturz entspricht dem Titersturz, der bei jenen Seren beobachtet wurde, die im Verlaufe der Immunisierung entnommen worden waren. Es ist nun interessant, daß bei nachträglicher Prüfung sich zeigte, daß auch die am 16. und 20. XII. entnommenen Seren nach der Aufbewahrung wieder wirksam geworden sind.

Diese Beobachtung mit den Seren der zweiten Gruppe lehrt, daß frische Sera, die unwirksam sind, dadurch wirksam gemacht werden können, daß man sie einige Wochen lang durch Aufbewahrung auf Eis ausreifen läßt.

Außer mit den Pa.-B.-Seren wurden alle Stämme mehrmals mit einem hochwertigen Gärtnerserum (Kaninchen) 1 : 18 000 agglutiniert. Eine stärkere Beeinflussung als bis 1 : 500, 1 : 1000 durch dieses Serum wurde nicht beobachtet. Im Anschlusse

daran sei erwähnt, daß zwei Gärtnerstämme mit allen Pa.-B.-Seren zur Agglutination verwendet wurden. Nie wurde einer derselben höher als 1 : 500 und dann nur atypisch beeinflußt.

Als Kontrolle bei jedem Versuch diente die Agglutination mit einem Normal-Kaninchen- und einem Cholera-Eselserum. Diese Prüfungen fielen stets negativ aus, d. h. es wurden niemals höhere Agglutinationswerte als höchstens 1 : 100 beobachtet.

Agglutinations-Methode.

Das Agglutinationsverfahren lehnte sich eng an jenes der Untersuchungen Rimpaus an, d. h. es erfolgte nach dem Kolleschen Verfahren. Die Resultate wurden bei schwacher Lupenvergrößerung abgelesen; in zweifelhaften Fällen wurde die mikroskopische Kontrolle zu Hilfe genommen. Auch hier erfolgte die Ablesung der Untersuchungen nicht nur nach 2 bis 4 Stunden sondern auch nach 18 bis 24 Stunden. Die Proben standen nach zweistündigem Aufenthalt im Brutschrank bei Zimmertemperatur. [Rimpau (3), Seite 324.]

Auch diesmal wurden die Agglutinationen mehrfach vorgenommen und entweder alle Stämme an einem Untersuchungstag mit mindestens vier Seren oder die Hälfte der Stämme mit 8 bis 9 Seren zu gleicher Zeit geprüft, um Fehlerquellen, die sich aus Zufälligkeiten ergeben konnten, möglichst auszuschließen. Alle Sera kamen mindestens dreimal, das Serum K. G. A. sogar siebenmal mit allen Stämmen zur Untersuchung.

Bei der Größe der Untersuchungsreihen — waren doch über 18 000 einzelne Agglutinationsproben nötig — war es mit zu großen Zeitverlusten verbunden, die Kulturen in die Verdünnungen einzureiben. Es wurden Aufschwemmungen der Kulturen mit phys. Kochsalzlösung hergestellt, indem 2 ccm derselben auf eine 18 bis 20 stündige Agarkultur gegeben wurden. Die Einfüllung in die Röhrchen, die mit 0,3 ccm Serummischung beschickt waren, erfolgte mit feinen Pipetten. Es wurde in jedes Röhrchen ein kleiner Tropfen = ca. ¼ Öse Kultur gegeben.

Es dürfte hier am Platze sein, den Maßstab anzugeben, den wir für die Beurteilung unserer Agglutinationsresultate gebrauch-

ten. Vorliegende Arbeit ist aus praktischen Erfahrungen und Erwägungen hervorgegangen, und ihre Resultate sollen für die Beurteilung der Agglutinationen in der Praxis einer Untersuchungsstation Anwendung finden. Bekanntlich werden durch ein agglutinierendes Immunserum nicht nur diejenigen Bakterien agglutiniert, welche derselben Art angehören, wie der zur Immunisierung benutzte Stamm, sondern es werden auch andere Bakterien durch sogenannte Mitagglutination in geringem Maße beeinflußt. Es ist also nicht die Erscheinung einer Agglutination allein schon maßgebend, sondern nur eine bestimmte Höhe kann als Beweis angesehen werden. Diese ist abhängig von der Höhe des Titers der Hauptagglutination. Lentz [18] hat als Ausdrucksform dafür einen Bruch empfohlen, wobei der Wert der beobachteten Agglutinationshöhe in den Zähler kommt, während der Titer des Serums gegenüber der geprüften Bakterienart den Nenner bildete. Wir sind dahin einig geworden, daß es bei Seren, wie sie in vorliegender Arbeit verwendet wurden, zweckmäßig sein dürfte, zu verlangen, daß ca. ¼ der Höhe des Titers überschritten sein muß, um die Agglutination als beweisend anzusehen.

Untersuchungs-Ergebnisse.

Zur endgültigen Beurteilung der einzelnen Agglutinationsresultate sind diese in einer Tabelle Nr. 1 zusammengestellt. Die Zusammenstellung ist in der Weise vorgenommen, daß für jeden Stamm und jedes Serum der Durchschnitt der bei den verschiedenen Agglutinationen erreichten Endtiter eingesetzt wurde, sowohl nach 2- bis 4- als auch nach 18- bis 24stündiger Beobachtungszeit.

Bei der verwirrenden Masse von Zahlen dürfte es zweckmäßig sein, die Ergebnisse unter verschiedenen Gesichtspunkten zu studieren.

Die erste Frage betrifft die Reichweite der Pa.-B.-Sera an sich. Ist die Verschiedenheit der Reichweite ein häufiges Vorkommen bei Pa.-B.-Seren oder nicht? Kommt der Beobachtung eines teilweisen Ausfalles der Reaktionsfähigkeit der Pa.-B.-Seren eine allgemeine Bedeutung zu, oder ist dieses verschiedene

Verhalten der Pa.-B.-Sera einzelnen Stämmen gegenüber nur als seltenes Ereignis anzusehen? Kutscher und Meinicke (8) und später Sobernheim und Seligmann (5) stellten die Behauptung auf, daß die Pa.-B.-Sera die Pa.-B.-Stämme sehr gleichmäßig beeinflussen. Von anderer Seite [Loghem (1) Rimpau (2) (3), Schern (4)] ist aber zum Teil schon früher das gegenteilige Verhalten erwiesen worden. Die Tabellen der Arbeiten von Sobernheim und Seligmann (5) und Stromberg (6) liefern gleichfalls Beweise hierfür.

Unsere Versuche beweisen, daß die Pa.-B.-Sera — alte und frischhergestellte — ausnahmslos die Pa.-B.-Stämme innerhalb weiter Grenzen verschieden beeinflussen.

Diese verschiedene Wirksamkeit der Pa.-B.-Sera auf die Pa.-B.-Stämme kann von dem zur Immunisierung verwendeten Pa.-B.-Stamme abhängen. Daß der zur Immunisierung verwandte Pa.-B.-Stamm für den Ausfall des Serums von Bedeutung ist, haben die Untersuchungen von Trommsdorff (9) (10), Böhme (16), Loghem (1), Sobernheim und Seligmann (5), Rimpau (3), Schern (4) ergeben. Wir haben darüber schon oben bei den Erörterungen über die Heranziehung der Stämme 21 und 28 zur Immunisierung gesprochen und konnten die Tatsache an unserem neuen Material bestätigen.

Die Frage, ob auch der Art der Immunisierung eine Bedeutung zukommt, wurde von Sobernheim und Seligmann dahin beantwortet, daß für Pa.-B.-Sera die Behandlung mit lebenden oder toten Erregern wenig Einfluß habe. Hierauf fußend ist, wie oben auseinandergesetzt wurde, bei der Immunisierung mit abgetöteten Kulturen vorgegangen worden.

Ob ferner die Verschiedenheit der Wirksamkeit der Pa.-B.-Sera eine Folge der individuellen Reaktion der Tiere sein kann, ist die Eingangs dieser Arbeit erörterte Hauptfrage nach der Bedeutung der Tierindividualität für den Ausfall der Wirksamkeit eines Serums. Wie verhalten sich Sera, die durch Immunisierung verschiedener Kaninchen mit demselben Stamm gewonnen sind,

(Fortsetzung des Textes S. 22.)

Tabelle 1. **Durchschnittliche Agglutinationshöhe von 34 Para-**

Die nicht eingeklammerte Zahl = Agglutinationshöhe nach 2–4stündiger Beobachtungszeit.

Stämme Nr.	Hogcholera Eselsserum Titer 1:20000	Kan.-Serum Stamm 3 Sp. Titer 1:4000	Kan.-Serum St. 21 S. (alt) Titer 1:4000	Kan.-Ser.(183) Stamm 21 S. Titer 1:4000	Kan.-Ser. 190 Stamm 21 S. Titer 1:2000	Kan.-Ser. 173 Stamm 21 S. Titer 1:8000
1	16 000 (16 000)	4000 (8000)	100 (100)	500 (1000)	1000 (4000)	2000 (8 000)
2	16 000 (16 000)	4000 (4000)	1000 (1000)	1000 (4000)	500 (2000)	8000 (4 000)
3	16 000 (20 000)	4000 (8000)	1000 (1000)	2000 (4000)	500 (1000)	4000 (8 000)
4	8 000 (16 000)	4000 (4000)	100 (500)	1000 (1000)	500 (500)	1000 (1 000)
5	1 000 (4 000)	500 (1000)	4000 (8000)	4000 (4000)	1000 (1000)	4000 (16 000)
6	1 000 (8 000)	100 (500)	4000 (4000)	2000 (4000)	1000 (1000)	4000 (16 000)
7	8 000 (16 000)	1000 (1000)	1000 (4000)	2000 (4000)	1000 (1000)	4000 (4 000)
8	8 000 (16 000)	1000 (1000)	1000 (1000)	2000 (2000)	500 (1000)	4000 (4 000)
9	16 000 (16 000)	4000 (4000)	100 (1000)	500 (500)	100 (500)	2000 (2 000)
10	16 000 (16 000)	4000 (8000)	1000 (4000)	2000 (4000)	500 (1000)	4000 (4 000)
11	8 000 (16 000)	1000 (4000)	1000 (4000)	1000 (4000)	1000 (4000)	2000 (2 000)
12	16 000 (16 000)	8000 (8000)	1000 (4000)	1000 (4000)	500 (1000)	2000 (2 000)
14	16 000 (16 000)	1000 (1000)	1000 (4000)	1000 (8000)	1000 (4000)	2000 (1 000)
15	16 000 (16 000)	4000 (4000)	500 (1000)	2000 (4000)	1000 (2000)	2000 (2 000)
16	8 000 (16 000)	1000 (1000)	100 (1000)	1000 (4000)	500 (1000)	500 (500)
17	16 000 (16 000)	1000 (4000)	1000 (4000)	2000 (4000)	500 (1000)	4000 (4 000)
18	8 000 (16 000)	1000 (4000)	1000 (8000)	1000 (2000)	1000 (1000)	4000 (4 000)
19	16 000 (16 000)	1000 (1000)	1000 (4000)	1000 (4000)	1000 (1000)	1000 (4 000)
20	8 000 (16 000)	1000 (4000)	1000 (1000)	1000 (2000)	500 (1000)	1000 (2 000)
21	4 000 (8 000)	1000 (500)	4000 (8000)	4000 (8000)	2000 (2000)	8000 (8 000)
28	8 000 (16 000)	4000 (4000)	100 (1000)	1000 (2000)	100 (500)	2000 (4 000)
29	16 000 (16 000)	8000 (8000)	1000 (8000)	1000 (4000)	1000 (2000)	2000 (4 000)
30	20 000 (20 000)	4000 (8000)	1000 (1000)	2000 (4000)	500 (1000)	500 (500)
31	16 000 (20 000)	4000 (8000)	1000 (4000)	2000 (4000)	1000 (1000)	2000 (4 000)
32	16 000 (20 000)	8000 (8000)	1000 (4000)	1000 (8000)	500 (4000)	4000 (8 000)
33	16 000 (20 000)	8000 (8000)	500 (4000)	1000 (4000)	500 (2000)	2000 (4 000)
35	16 000 (20 000)	4000 (8000)	1000 (1000)	1000 (4000)	500 (1000)	500 (500)
36	16 000 (16 000)	1000 (1000)	1000 (8000)	2000 (4000)	500 (4000)	4000 (8 000)
37	16 000 (16 000)	500 (1000)	1000 (4000)	2000 (4000)	1000 (1000)	4000 (4 000)
38	16 000 (16 000)	1000 (1000)	1000 (1000)	2000 (2000)	1000 (1000)	2000 (2 000)
39	16 000 (16 000)	1000 (1000)	1000 (1000)	1000 (2000)	500 (1000)	500 (2 000)
40	20 000 (20 000)	8000 (8000)	4000 (8000)	2000 (8000)	500 (4000)	1000 (4 000)
41	16 000 (20 000)	8000 (8000)	1000 (4000)	2000 (2000)	500 (1000)	4000 (4 000)
44	16 000 (16 000)	4000 (4000)	1000 (1000)	1000 (4000)	500 (1000)	500 (1 000)

typhus-B.-Stämmen gegenüber folgenden 12 Paratyphus-B.-Seren.

Die eingeklammerte Zahl = Agglutinationshöhe nach 18—24stündiger Beobachtungszeit.

K.-S. „Schwarz" Stamm 21 S. Titer 1:8000		Kaninch.-Serum Stamm 28 Sch. alt Titer 1:8000		Kan.-Ser. 34 St. 28 Sch. Titer 1:8000		Kan.-Ser. 27 Stamm 28 Sch. Titer 1:8000		Kan.-Ser. 42 Stamm 28 Sch. Titer 1:8000		Kan.-Ser. 80 Stamm 28 Sch. Titer 1:8000		Stämme Nr.
2 000	(8 000)	4 000	(8 000)	⊖	(100)	4000	(4 000)	4000	(8 000)	4000	(4 000)	1
8 000	(8 000)	4 000	(4 000)	100	(100)	4000	(4 000)	2000	(2 000)	1000	(4 000)	2
8 000	(8 000)	1 000	(4 000)	100	(100)	4000	(4 000)	4000	(4 000)	2000	(2 000)	3
2 000	(2 000)	4 000	(4 000)	100	(100)	4000	(4 000)	2000	(4 000)	2000	(4 000)	4
4 000	(16 000)	100	(100)	100	(500)	1000	(1 000)	4000	(4 000)	2000	(2 000)	5
16 000	(16 000)	100	(500)	100	(100)	1000	(1 000)	4000	(8 000)	2000	(8 000)	6
2 000	(4 000)	8 000	(16 000)	100	(500)	8000	(16 000)	8000	(16 000)	8000	(16 000)	7
8 000	(8 000)	1 000	(1 000)	100	(100)	1000	(4 000)	2000	(4 000)	1 000	(1 000)	8
2 000	(4 000)	4 000	(4 000)	100	(100)	4000	(4 000)	2000	(2 000)	1000	(4 000)	9
4 000	(4 000)	500	(500)	100	(500)	100	(4 000)	4000	(4 000)	2000	(2 000)	10
4 000	(4 000)	8 000	(16 000)	100	(500)	8000	(16 000)	4000	(8 000)	4000	(8 000)	11
4 000	(4 000)	8 000	(8 000)	100	(500)	4000	(8 000)	1000	(4 000)	2000	(4 000)	12
8 000	(8 000)	16 000	(16 000)	100	(500)	8000	(16 000)	8000	(8 000)	8000	(16 000)	14
16 000	(8 000)	1 000	(4 000)	100	(500)	1000	(4 000)	4000	(4 000)	2000	(4 000)	15
4 000	(8 000)	1 000	(1 000)	100	(500)	1000	(1 000)	2000	(2 000)	500	(1 000)	16
8 000	(8 000)	8 000	(8 000)	100	(500)	8000	(16 000)	2000	(4 000)	1000	(2 000)	17
1 000	(4 000)	8 000	(16 000)	100	(500)	8000	(16 000)	8000	(16 000)	4000	(8 000)	18
2 000	(2 000)	8 000	(16 000)	100	(500)	8000	(16 000)	8000	(16 000)	4000	(16 000)	19
4 000	(8 000)	500	(4 000)	100	(100)	1000	(2 000)	2000	(4 000)	⊖	(1 000)	20
8 000	(16 000)	100	(100)	100	(100)	1000	(4 000)	2 000	(2 000)	1000	(2 000)	21
2 000	(8 000)	8 000	(16 000)	8000	(8000)	8000	(16 000)	8000	(16 000)	8000	(16 000)	28
2 000	(8 000)	4 000	(16 000)	100	(500)	4000	(8 000)	1000	(4 000)	2000	(2 000)	29
2 000	(4 000)	4 000	(16 000)	⊖	(500)	1000	(4 000)	500	(500)	2000	(4 000)	30
2 000	(4 000)	1 000	(16 000)	⊖	(500)	1000	(4 000)	1000	(4 000)	1000	(4 000)	31
4 000	(8 000)	4 000	(8 000)	⊖	(1000)	1000	(4 000)	500	(2 000)	2000	(8 000)	32
2 000	(4 000)	1 000	(8 000)	⊖	(100)	1000	(4 000)	500	(2 000)	1000	(2 000)	33
500	(2 000)	4 000	(8 000)	⊖	(500)	1000	(4 000)	500	(1 000)	2000	(2 000)	35
4 000	(8 000)	8 000	(16 000)	⊖	(500)	4000	(16 000)	4000	(16 000)	4000	(16 000)	36
4 000	(8 000)	8 000	(16 000)	100	(500)	8000	(8 000)	8000	(16 000)	4000	(8 000)	37
8 000	(16 000)	1 000	(4 000)	100	(100)	1000	(1 000)	1000	(1 000)	2000	(2 000)	38
8 000	(8 000)	100	(100)	100	(100)	1000	(1 000)	1000	(2 000)	2000	(4 000)	39
4 000	(4 000)	8 000	(16 000)	100	(1000)	8000	(16 000)	2000	(2 000)	2000	(4 000)	40
4 000	(4 000)	1 000	(8 000)	500	(500)	1000	(4000)	4000	(4 000)	1000	(2 000)	41
4 000	(8 000)	⊖	(100)	100	(100)	100	(1 000)	1000	(2 000)	1000	(2 000)	44

in ihrer agglutinatorischen Wirksamkeit zueinander? Ist ihre Reichweite die gleiche, oder zeigen sie wesentliche Unterschiede? Die Antwort ist, wie sich später zeigen wird, in dem Sinne zu geben, daß sie sich deutlich unterscheiden.

Bevor wir uns an die Beantwortung dieser Frage machen, soll schon hier auf die interessante Beobachtung hingewiesen werden, daß nicht nur die Sera verschiedener Tiere Verschiedenheiten aufweisen, sondern daß auch dasselbe Serum sich durch Lagerung qualitativ verändert. Über diese interessante, neue Beobachtung wird später ausführlich zu sprechen sein.

Ferner interessiert uns das agglutinatorische Verhalten der zur Untersuchung benutzten Stämme. Ihre Agglutinabilität ist dadurch erwiesen, daß jeder Stamm durch das eine oder andere Serum hoch agglutiniert wird. Wie aus den Untersuchungen hervorgeht, ist es überaus schwer zu sagen, ob ein Stamm leicht oder schwer agglutinabel ist, denn mit dem einen Serum agglutiniert er nicht oder weniger gut, mit dem anderen Serum sehr stark. Es ist daher die Bezeichnung eines Stammes als agglutinabel ein relativer Begriff, bezogen auf die gerade verwendeten Sera. Eine andere Frage bezüglich des Verhaltens der Stämme ist die nach der Änderung oder Konstanz der Agglutinabilität. Die Möglichkeit einer Änderung derselben kann nicht bestritten werden; diese Änderung kann entweder eine Modifikation, d. h. ein durch äußere Einflüsse (Nährböden, Temperatur usw.) bedingtes Schwanken, oder eine allmählich oder plötzlich vor sich gehende Änderung des Gesamtcharakters, eine Mutation, sein. Den Einfluß der Schwankungen auf unsere Agglutinationsresultate nach Kräften auszuschließen, wurde dadurch gesucht, daß man innerhalb einiger Wochen jedes Serum mehrmals auf jeden Stamm einwirken ließ und den Durchschnittswert der im allgemeinen gleichbleibenden Resultate der Beurteilung zugrunde legte. Sowohl während der Beobachtungszeit, über die Rimpau berichtet hat, als auch während der Beobachtungszeit der vorliegenden Arbeit sind sprunghafte Veränderungen der Stämme frischen Seren gegenüber nicht beobachtet worden.

Es hat nicht festgestellt werden können, daß ein Stamm mit den frischen Seren nun plötzlich seine Agglutinabilität verloren oder frisch gewonnen hat. An eine Änderung der Agglutinabilität der Stämme könnte man denken, wenn man den Ausfall der Agglutinationstiterlinien der von Rimpau untersuchten Seren mit den Titerlinien vergleicht, die diese Sera nach mehrmonatlicher Aufbewahrung mit den gleichen Stämmen bei meinen Agglutinationen zeigten. Es kann gefragt werden, ob der verschiedene Ausfall an einer Veränderung der Stämme oder einer solchen der Sera liegt. Da während der Beobachtungszeit keine sprunghaften Veränderungen der Agglutinabilität der Stämme den Seren gegenüber festgestellt worden sind, da anderseits die Titerlinien der alten Seren in ihrem zackigen Verlauf direkt den Erfahrungen, die an den frischen Seren gewonnen worden sind, entsprechen, so dürfte die Ursache für die Veränderung der Titerlinien der gelagerten Seren wohl in den Seren selber und nicht in den Stämmen zu suchen sein. Gegen die Veränderung der Stämme spricht auch, daß ihr Verhalten gegenüber dem K. G. A.-Esel-Serum fast völlig unverändert geblieben ist.

I. Das gleiche Pa.-B.-Kaninchen-Serum beeinflußt verschiedene Pa.-B.-Stämme verschieden.

Wie die Zahlen in der letzten Rubrik der Tabelle 2 zeigen, findet sich unter allen Seren kein einziges, das alle Stämme in gleicher Weise so hoch agglutinierte, daß sich ein jeder Stamm der Sammlung durch dasselbe identifizieren ließe. Nur ein Serum (St. 3 Sp.) vermochte früher bei den Agglutinationsversuchen Rimpaus wenigstens innerhalb 24 stündiger Beobachtungszeit alle Stämme hoch zu agglutinieren, hat aber, wie sich aus den Tabellen 1 und 2 und den Kurven III und IV ergibt, diese Fähigkeit einer großen Anzahl von Stämmen gegenüber verloren.

Eine Durchsicht der Tabelle 1 mit den verschieden hohen Zahlen und ein Blick auf Tabelle 2 überzeugt besser, als eine ausführliche Aufzählung von Einzelheiten es tun kann, daß die Agglutinationsergebnisse desselben Serums mit den 34 verschiedenen Pa.-B.-Stämmen außerordentlich verschieden sind.

Tabelle

Übersicht über die Stämme, die mit den

			Stamm Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	15	16	17	18	19
Hogcholera-Eselserum 1:20000		Aggl. Rimpau						5 5	6 6												
		Aggl. Keck						5 5	6												
Kaninchenserum Stamm 3 Sp.		Aggl. Rimpau										9		11						18	
		Aggl. Keck						5 5	6 6	7 7	8 8			11		14 14		16 16	17	18	19 19
Kaninchenserum Stamm 21 S.	Altes Serum	Aggl. Rimpau		1 1		3 3	4 4			7		9 9	10		12 12		15		17	18	
		Aggl. Keck		1 1	2 2	3 3	4 4			7	8 8	9 9	10	11	12	14	15 15	16 16	17	18	19
	183			1 1	2		4 4					9 9		11	12	14		16		18	19
	190				2	3	4 4				8	9 9	10		12			16	17		
	173			1			4 4					9 9		11 11	12 12	14 14	15 15	16 16			19
	„Schwarz"			1			4 4			7		9								18	19 19
Kaninchenserum Stamm 28 Sch.	Altes Serum	Aggl. Rimpau		1	2	3	4	5 5	6 6		8 8	9 9			12			16 16			
		Aggl. Keck				3		5 5	6 6		8 8		10 10				15	16 16			
	34			1 1	2 2	3 3	4 4	5 5	6 6	7 7	8 8	9 9	10 10	11 11	12 12	14 14	15 15	16 16	17 17	18 18	19 19
	27							5 5	6 6		8		10				15	16 16			
	42				2 2		4				8	9 9			12			16 16	17		
	80				2	3 3	4	5 5	6		8 8	9	10 10		12		15	16 16	17 17		

2.

einzelnen Seren nicht zu identifizieren waren.

20	21	28	29	30	31	32	33	35	36	37	38	39	40	41	44	Beob. Zeit Std.	nicht ident.
	21	28														2	4
																24	2
	21															2	3
																24	1
20								35		37						2	6
																24	—
20	21							35	36	37	38					2	16
	21							35	36	37	38					24	12
20			29	30	31	32	33	35	36	37			40	41		2	21
			29	30	31	32	33	35								24	11
20		28	29	30	31	32	33	35	36	37	38	39		41	44	2	30
20		28		30				35			38	39			44	24	15
20		28	29			32	33	35				39			44	2	18
																24	3
20		28		30		32	33	35	36			39	40	41	44	2	20
		28														24	3
20		28	29	30	31		33	35			38	39	40		44	2	20
20				30				35			38	39			44	24	13
		28	29	30	31		33	35								2	12
								35								24	3
20	21		29	30	31		33	35		37	38	39	40		44	2	22
20	21						33				38	39			44	24	11
20	21				31		33				38	39		41	44	2	15
	21											39			44	24	8
20	21		29	30	31	32	33	35	36	37	38	39	40	41	44	2	33
20	21		29	30	31	32	33	35	36	37	38	39	40	41	44	24	33
20	21			30	31	32	33	35			38	39		41	44	2	17
20											38	39			44	24	7
20	21		29	30	31	32	33	35			38	39	40		44	2	19
	21			30		32	33	35			38	39	40		44	24	12
20	21		29	30	31	32	33	35			38	39	40	41	44	2	25
20	21		29				33	35			38			41	44	24	14

Aus diesem Befund der verschiedenen Beeinflussung verschiedener Stämme durch dasselbe Serum ergeben sich zwei praktisch außerordentlich wichtige Fragen. Einmal interessiert uns, ob bei den einzelnen Pa.-B.-Seren die Verschiedenheiten der Beeinflussung von Pa.-B.-Stämmen gleich groß sind, d. h. ob die verschiedenen Pa.-B.-Seren alle gleich viel Stämme hoch und gleichviel schwach oder nicht zu beeinflussen vermögen. Diese Frage ist aus unseren Tabelle 1 und 2 leicht dahin zu beantworten, daß hierin außerordentlich große Verschiedenheiten der einzelnen Sera bestehen, so vermag z. B. das Hogcholera-Eselsserum des K. G. A. nur drei Stämme nach zweistündiger Beobachtungszeit und nur einen Stamm auch nach 24 stündiger Beobachtungszeit (Agglutination des Verfassers) n i c h t zu identifizieren. Im Gegensatz dazu steht das Serum St. 21 alt (Agglutination des Verfassers). Dieses Serum agglutiniert innerhalb zwei Stunden 30 verschiedene Stämme nicht oder nur schwach und beeinflußt 15 von ihnen auch nach 24 Stunden nur ungenügend, d. h. nur in hohen Konzentrationen. Das stammspezifische Serum 34 bleibt hier natürlich außer Erörterung.

Mit der anderen Frage, ob die verschiedene Beeinflussung der Pa.-B.-Stämme durch dasselbe Serum insofern eine gleichartige bei den verschiedenen Seren ist, daß hauptsächlich die gleichen Stämme durch die Sera entweder hoch oder niedrig agglutiniert werden, berühren wie die Verhältnisse der einzelnen Stämme, die in einem späterem Abschnitt erörtert werden sollen. Es sei hier nur erwähnt, daß gegenüber gewissen Stämmen offenbar für viele Sera Schwierigkeiten zum Zustandekommen der Agglutinationserscheinungen bestehen, so bei den Stämmen 4, 9, 16, 20, 21, 28, 33, 35, 39, 44, während gegenüber anderen Stämmen die Agglutination leicht zustande kommt, z. B. bei Stamm 7, 14 und 36.

Daß die Sera, die durch Immunisierung verschiedener Kaninchen mit demselben Stamme gewonnen wurden, sich durch ein gleichsinniges Verhalten einzelnen Stämmen gegenüber auszeichnen, wird bei der Besprechung der Bedeutung der Tierindividualität betont werden.

II. Derselbe Pa.-B.-Stamm gibt bei Impfung verschiedener Tiere gleicher Art (Kaninchen) verschiedene Sera.

Die Untersuchung dieser Frage wurde an den oben beschriebenen zwei Serengruppen gemacht. Die eine Serengruppe wurde, um es zu wiederholen, durch Immunisierung von Kaninchen mit dem Stamm 21 S, die andere Serengruppe durch Immunisierung mit dem Stamm 28 Sch gewonnen. Jede Gruppe enthält, wie in der Besprechung des Materials angegeben ist, je fünf Sera. Davon ist je ein älteres vorhanden gewesen, die vier anderen jeder Serengruppe wurden neu hergestellt. Die Betrachtung soll zunächst in jeder Gruppe getrennt erfolgen.

Wir werden zuerst die Agglutinationsverhältnisse der Sera studieren, die durch Immunisierung mit dem Stamm 21 S gewonnen wurden. Dies kann an der Hand der Tabelle 2 geschehen. Sie gibt uns für jedes der Sera an, wie oft und bei welchen Stämmen die zur Diagnosenstellung verlangte Agglutinationshöhe n i c h t erreicht wurde, d. h. welche Stämme wir durch das betreffende Serum n i c h t identifizieren konnten.

Wir konnten schon aus den Erfahrungen R i m p a u s schließen, daß nur ein Teil dieser Sera die Pa.-B.-Stämme höher beeinflussen werde, was uns aber überraschte, ist die Größe der Verschiedenheit der Einwirkung der einzelnen mit demselben Stamm hergestellten Seren auf dieselben Stämme. So schwankt die Zahl der ausfallenden Stämme bei den einzelnen Seren zwischen 30 und 12 für die Beurteilung nach zwei Stunden und zwischen 15 und 3 für die nach 24 Stunden. Es ist naheliegend anzunehmen, daß jedem Stamm ein bestimmter Grad der Agglutinabilität und jedem Serum ein bestimmter Grad von Agglutinationskraft zukomme, so daß sich eine Reihe von Pa.-B.-Stämmen nach fallender Agglutinabilität aufstellen lasse und ebenso eine entsprechende Reihe der Sera. Es müßten dann alle Stämme, welche von dem am schwächsten wirkenden Serum agglutiniert werden, auch von allen anderen Seren agglutiniert werden, und umgekehrt müßte eine Anzahl der durch das geschwächte Serum nicht beeinflußten Stämme durch das in der Reihe folgende stärkere Serum und die anderen in der Reihe folgenden noch stärkeren Seren

agglutiniert werden. Von einer solchen strengen Gesetzmäßigkeit ist aber keine Rede. So werden vom Serum „Schwarz", dem stärkst wirksamen Serum 12 Stämme nach zwei Stunden nicht agglutiniert. Von diesen 12 Stämmen versagen zwar alle 12 auch mit unserem schwächsten Serum St. 21 alt, aber nur 10 mit dem schwächeren Serum 173, nur 9 mit dem ebenfalls schwächeren Serum 183 und gar nur 6 mit dem schwachen Serum 190. Und umgekehrt vermögen auch nicht alle anderen, stärkeren Seren alle vom schwächsten Serum St. 21 alt S agglutinierten Stämme zu beeinflussen; so wird Stamm 40, der durch dieses schwache Serum innerhalb zwei Stunden zur Agglutination gebracht wird, von zwei anderen stärkeren Seren, nämlich 190 und 173 innerhalb zwei Stunden nicht agglutiniert. Man könnte nun denken, daß die Verschiedenheiten auf einem verschieden schnellen Ablauf der Agglutination beruhen, denn bei vielen Stämmen kommt zwar eine Agglutination zustande, ihr Eintritt findet aber, besonders bei stärkeren Verdünnungen, erst nach längerer Zeit statt. Es müßten sich also nach 24 stündiger Beobachtungszeit die Unterschiede ausgleichen. Dem ist aber nicht so. So wird der von dem schwachen Serum 190 innerhalb zwei Stunden agglutinierte Stamm 19 von dem stärkeren Serum „Schwarz" auch nach 24 Stunden nicht beeinflußt. Daß dieser Stamm aber nicht überhaupt schwer agglutinabel ist, geht daraus hervor, daß er mit dem größten Teil der anderen Sera (Sch. Sp. K. G. A.) schon nach zwei Stunden agglutiniert wird. So erscheint das Bild auf den ersten Blick so mannigfaltig, daß wir zunächst kein System in das Verhalten dieser mit demselben Stamm gewonnenen Sera bringen können. Bei näherer Betrachtung aber finden wir, daß dieses verschiedene Verhalten der fünf Sera St. 21 S. nur gegenüber der Mehrzahl der Stämme zutrifft, anderen, freilich nur wenigen, gegenüber ist das Verhalten ein gleichsinniges, entweder so, daß alle Sera den gleichen Stamm höher beeinflussen, so hier außer dem homologen Stand die Stämme Nr. 5 und 6, oder so, daß alle Sera dem gleichen Stamm gegenüber vollständig versagen, so daß auch nach 24 Stunden keine beweisende Agglutination zustande kommt, so Stamm 4 gegenüber. Zwischen dieser vollkommenen

Inagglutinabilität gewisser Stämme unseren fünf Seren dieser Serengruppe gegenüber und der hohen Agglutinabilität anderer Stämme, welche durch alle fünf Sera innerhalb zwei Stunden hoch beeinflußt werden, gibt es alle Übergänge. So gibt es Stämme, z. B. 7, 10, 17, 18, 29, 31, 32, 33, 36, 37, 40, 41, welche durch alle fünf Seren identifiziert werden können, aber durch alle Sera oder durch einen Teil derselben erst nach 24 Stunden. So tritt bei Stamm 33 die Agglutination bei allen Seren erst nach 24 Stunden in beweisender Höhe auf. Ähnlich bei Stamm 29. Dieser wird aber nur durch das Serum 190 schon nach zwei Stunden hoch agglutiniert. Bei den Stämmen 10, 17, 36, vermögen die gleichen zwei Sera St. 21 S „alt", und St. 21 S. 190, die Agglutination in höherem Grade erst innerhalb 24 Stunden zu bewirken. Die übrigen obengenannten Stämme verhalten sich in bezug auf die Sera, durch die sie nicht innerhalb zwei Stunden agglutiniert werden, verschieden.

Wichtig ist, daß unter diesen Seren solche vorkommen, welche einen Stamm gar nicht, auch nicht nach 24 Stunden beeinflussen, den die anderen Sera schon nach zwei Stunden hoch agglutiniert haben. So agglutinieren die Sera Kan. 173 (St. 21 S) und St. 21 S alt die Stämme 15 und 38 überhaupt nicht, die anderen Sera aber schon innerhalb zwei Stunden. Anderen Stämmen gegenüber tritt folgendes Verhalten auf. Der Stamm 1 wird z. B. von einem Serum 190 (St. 21 S) schon nach zwei Stunden agglutiniert und von zwei anderen Seren Kan. 173 (St. 21 S) und St. 21 S „schwarz" erst nach 24 Stunden. Zwei Sera Kan. 183 (St. 21 S) und St. 21 S „alt" versagen vollkommen. Ein entsprechendes Verhalten zeigt sich gegenüber den Stämmen 2, 3, 8, 9, 11, 12, 14, 16, 19, 20, 28, 30, 35, 39, 44; doch sind es jedesmal wieder andere Sera, welche auf einen dieser Stämme nicht, nur langsam oder rasch einwirken. Eine Aufzählung würde ermüden, sie ist überflüssig, denn die Verhältnisse sind aus der Tabelle leicht zu ersehen.

Das aber geht klar aus alledem hervor, daß die fünf an verschiedenen Tieren mit demselben Stamm 21 S gewonnenen Seren in der Auswahl und Stärke der Beeinflussung der 34 Stämme unserer Sammlung sich sehr verschieden verhalten. Eine auffallende

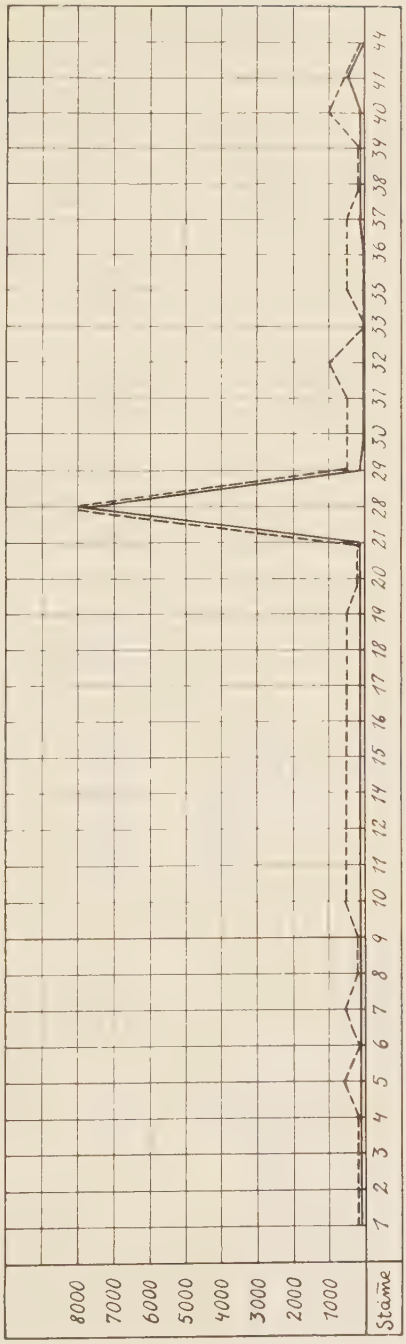
Übereinstimmung aller Seren zeigt sich dagegen in der raschen Agglutination der Stämme 5 und 6, wie des homologen Stammes 21, ferner darin, daß sie alle auf Stamm 4 überhaupt nicht einwirken.

Wenden wir uns nun der zweiten Seragruppe zu, die durch Immunisierung mit Stamm 28 Sch gewonnen wurden. Auch hier sehen wir die allergrößten Unterschiede in der Wirksamkeit; die Zahlen nicht identifizierbarer Stämme schwanken zwischen 33 und 15 bezüglich 33 und 8. Unter diesen fünf Seren muß Serum 34 aus unserer weiteren Betrachtung ausscheiden. Bei den vier übrigen Seren tritt uns bezüglich der Beeinflussung der Stämme ein ähnliches Verhalten wie bei den Seren der ersten Gruppe entgegen. Auch hier gibt es ein gleichsinniges Verhalten aller Sera gewissen Stämmen gegenüber. So werden durch die vier Sera stets bereits innerhalb der ersten zwei Stunden der Einwirkung die Stämme 11, 14, 18, 19, 36 und 37 agglutiniert; Stamm 16 und 44 werden überhaupt nicht agglutiniert. Allen anderen Stämmen gegenüber wirken die Sera ebenso verschieden wie die Sera Stamm 21 S, nämlich so, daß eines oder mehrere von ihnen einzelne Stämme sofort agglutinieren, welche andere Sera gar nicht oder doch nur langsam ausflocken. Die besonderen Verhältnisse der einzelnen Seren sind an der Hand der Tabelle 2 besser zu überblicken, als es eine noch so eingehende Besprechung geben kann. Auch diese vier Sera der zweiten Gruppe ergeben, wie die der ersten Seren gruppe, daß durch Immunisierung verschiedener Kaninchen, verschieden wirksame Seren gewonnen werden, welche aber doch durch die gleichsinnige Beeinflussung bestimmter Stämme ihre Zusammengehörigkeit erweisen.

Ein besonders merkwürdiger, offenbar nicht gerade häufiger Befund konnte an Serum 34 erhoben werden. Bei der Besprechung der Immunisierung wurde bereits darauf hingewiesen, daß das hochwertige Serum 1 : 8000 sich als vollkommen stammspezifisch erwies, d. h. es agglutinierte außer dem homologen keinen einzigen der anderen 34 Stämme. Die Agglutination des Stammes 41 nach zwei Stunden in der Verdünnung $^1/_{500}$ und der Stämme 32 und 40 nach 24 Stunden in der Verdünnung $^1/_{1000}$ sind

zu gering, als daß sie eine Grundlage für die Beurteilung der Zugehörigkeit dieser Stämme zur Paratyphus-B.-Gruppe bilden könnten. Diese Beobachtung erscheint überaus wichtig; sie zeigt, von welcher Bedeutung die individuelle Verschiedenheit der benutzten Tiere für die Gewinnung des Serums ist.

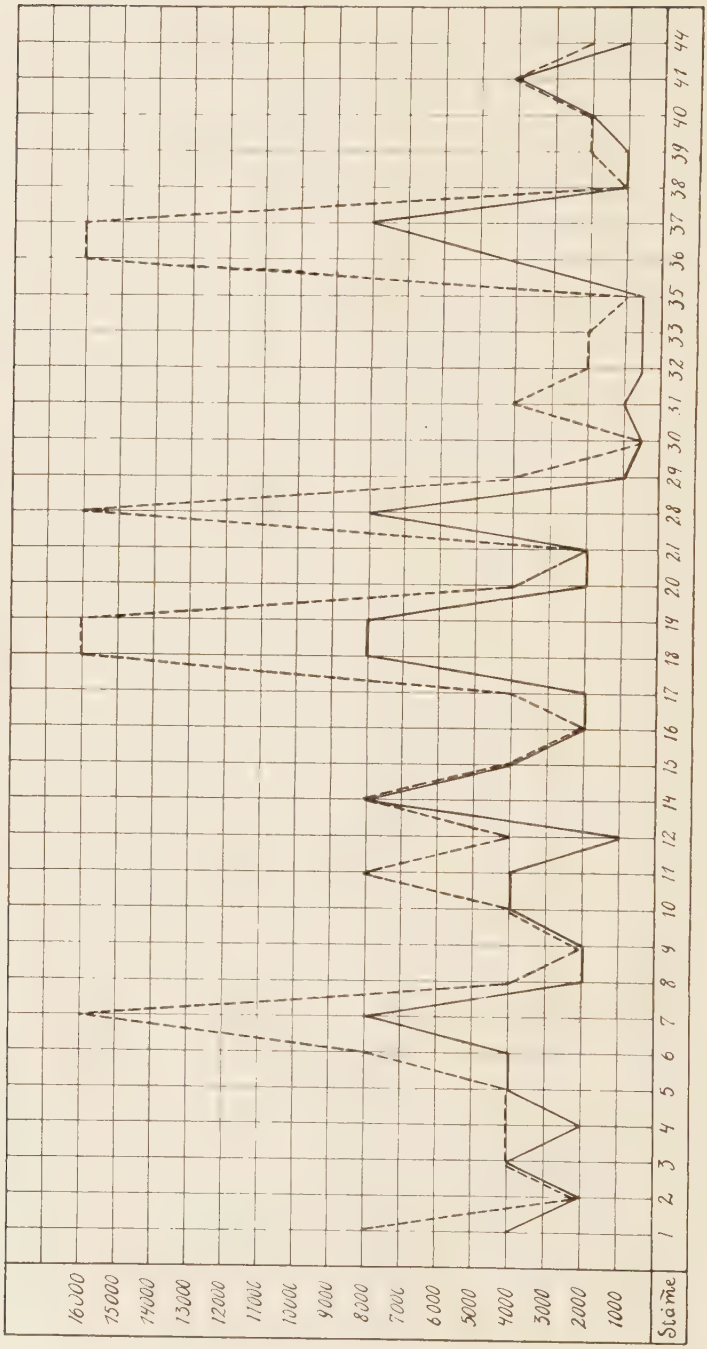
Die praktische Bedeutung dieser Beobachtung ist folgende. Einmal warnt sie davor, neue Gruppen, z. B. die Paratyphus-C.-Gruppe auf Grund der Immunisierung nur eines Tieres aufzustellen. Es ist möglich, daß man mit einem kulturell zu Paratyphus-B. gehörigen Stamme aus einem Krankheitsfalle ein derartiges Serum gewinnt, und sich nun zur Aufstellung einer besonderen Abart für berechtigt hält, wäh-



Kurve I.
Kaninchen-Serum 34 (St. 28 Sch.)

Kurve II.

Kaninchen-Serum 42 (St. 28 Sch.)



——— Aggl.-Höhe nach 2—4 Std. — — — — — Aggl.-Höhe nach 18—24 Std.

rend die Immunisierung anderer Tiere mit demselben Stamm deutlich den Beweis bringt, daß es sich um einen gewöhnlichen Pa.-B.-Stamm handelt. Die zweite Lehre, die für die Praxis aus dieser Beobachtung zu ziehen ist, ist die, daß die für den Laboratoriumsgebrauch hergestellten Pa.-B.-Seren vor der Anwendung mit mehreren Pa.-B.-Stämmen zwecks ungefährer Feststellung ihrer Reichweite geprüft werden müssen. Denn es kann sich ereignen, daß bei der Immunisierung eines Kaninchens mit einem Pa.-B.-Stamm — vielleicht dem einzigen, der gerade zur Hand war — ein stammspezifisches Serum erhalten wird. Infolge seiner Hochwertigkeit und seines einwandfreien Verhaltens bei Wiederholung der Agglutination mit dem homologen Stamm genießt dieses Serum vollkommenes Vertrauen, und nun werden echte Pa.-B.-Stämme, weil sie durch dieses Serum nicht agglutiniert werden, falsch diagnostiziert. Es erscheint deshalb die Forderung angezeigt, um es zu wiederholen, daß zu diagnostischen Zwecken nie ein Serum allein verwendet werde, und daß nur solche Sera verwendet werden, welche durch Prüfung mit mehreren Pa.-B.-Stämmen als nicht stammspezifisch befunden worden sind. Dieser Befund erscheint mir so wertvoll, daß ich durch Gegenüberstellung zweier Kurven I und II die Aufmerksamkeit in besonderem Grade darauf lenken will.

III. Das Verhalten desselben Pa.-B.-Serums wechselt mit dem Alter.

Wie bereits früher angegeben wurde, kamen vier von den sechs Seren, mit denen Rimpau seine Agglutinationsversuche gemacht hatte, nochmals zur Verwendung. Diese Wiederholung führte zu Resultaten, die für die Kenntnis der Wirksamkeit älterer Seren von großem Wert sind. Die Agglutinationsresultate wichen nämlich bei meinen Untersuchungen zum Teil recht erheblich von den in Rimpaus Arbeit niedergelegten ab; verschiedene Beobachtungen, auf die ich an anderer Stelle früher bereits eingegangen bin, lassen den Schluß zu, daß die Ursache der verschiedenen Ergebnisse nicht oder nur zum kleinsten Teil in einer Änderung der Agglutinabilität der Bakterien, sondern

hauptsächlich in einem Wechsel der Wirkungsweise der Sera zu suchen ist.

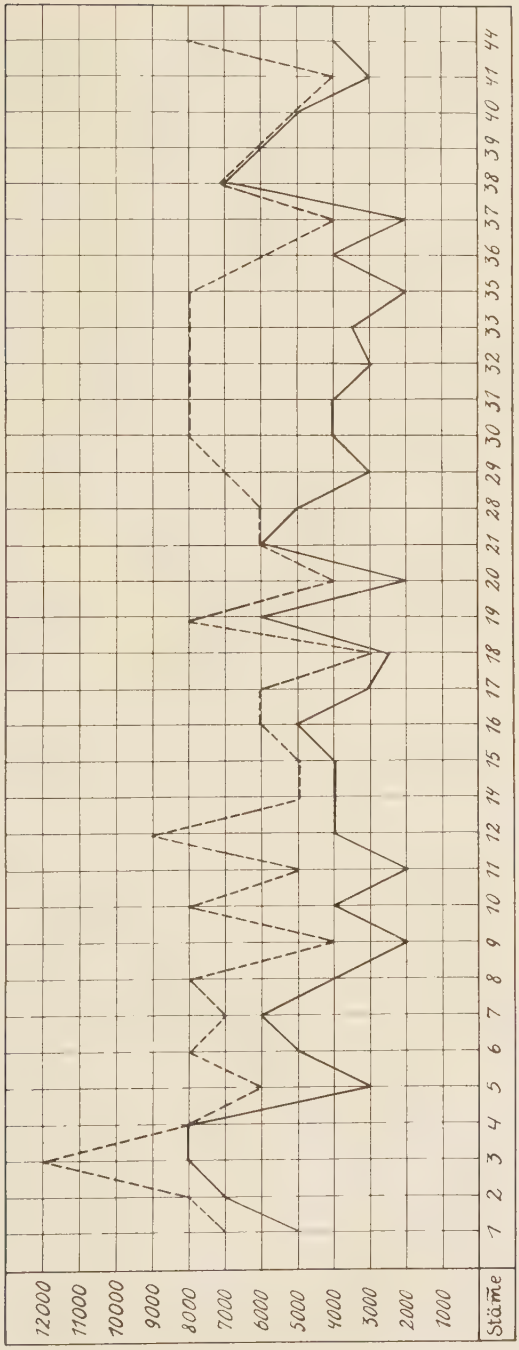
Es erscheint empfehlenswert, ein Serum nach dem andern zu prüfen und die Ergebnisse zu besprechen.

Das Hogcholera-Eselsserum aus dem K. G. A. identifizierte die meisten Stämme, nur vier Stämme: 5, 6, 21 und 28 waren nach zwei Stunden, zwei Stämme: 5 und 6, auch nach 24 Stunden nicht zu identifizieren. Das Serum, dessen angegebener Titer 1 : 5000 ist, agglutinierte früher die meisten Stämme 1 : 15 000 bis 1 : 20 000; auch wir konnten für die meisten Stämme eine Agglutination bis 16 000 und darüber beobachten. Das Verhalten des Serums gegenüber den einzelnen Stämmen ist sehr gleichartig geblieben. Nur einzelne Stämme waren z. B. 1, 2, 14, 17, 39 jetzt bei 16 000 noch stark beeinflußt, während früher die obere Grenze bei 1 : 10 000 lag. Gleichfalls höhere Beeinflussung zeigt Stamm 6 für 24 stündige Beobachtungszeit, Stamm 28 für zweistündige Beobachtungszeit, so daß letzterer von mir bereits nach zwei Stunden identifiziert werden konnte. Eine geringe Hebung des Agglutinationswertes zeigte sich auch gegen Stamm 21. Eine geringe Abnahme der Titerhöhe zeigte sich gegen die Stämme 5 und 6 letzterer konnte aber, wie bereits gesagt, nunmehr nach 24 Stunden stets als beweisend agglutiniert angesehen werden; etwas geringer wurde ferner Stamm 20 agglutiniert. Trotz der geringen Änderungen der Agglutinationshöhe gegenüber einzelnen Stämmen ergibt sich, daß das Hogcholera-Eselserum im allgemeinen seine Eigenart beibehalten hat.

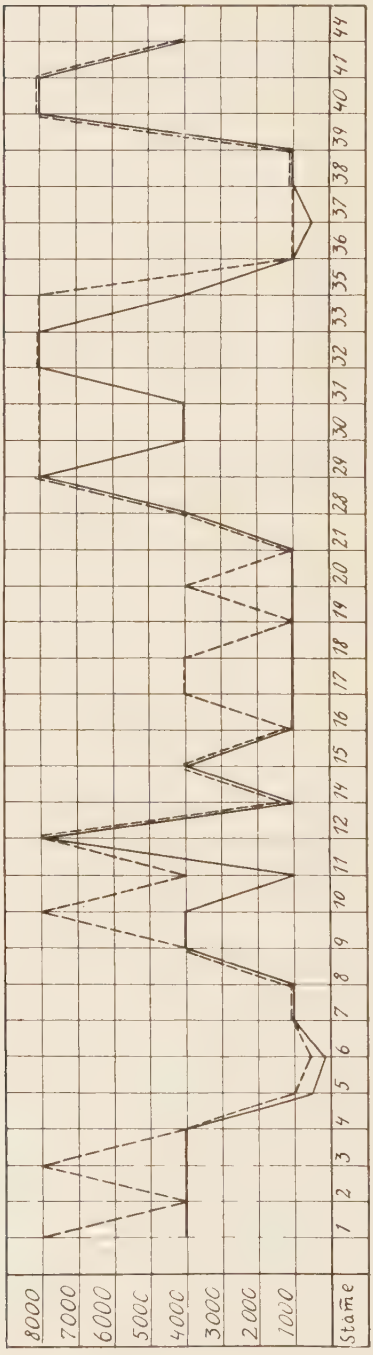
Das mit dem Stamm 3 Sp. hergestellte Serum zeigte bei den Agglutinationen Rimpaus gegenüber dem homologen Stamm den Titer 1 : 8000 und agglutinierte nach zwei Stunden nur sechs von allen Stämmen nicht. Nach 24 Stunden hatte die Agglutination bei sämtlichen Stämmen einen hohen Grad erreicht. Dieses Serum zeigte bei den jetzigen Untersuchungen einen Titersturz auf die Hälfte 1 : 4000 und eine bedeutende Änderung der Wirkungsweise. Ich lege die beiden Kurven III und IV bei. Die Unterschiede in beiden Titerlinien [bzw. der Herstellung der Titerlinie verweise ich auf Rimpaus Arbeit (3)] sind, sowohl nach

Kurve III.

Kaninchen-Serum St. 3 Sp. Agglutination Rimpau.



——— Aggl.-Höhe nach 2—4 Std. — - — - — Aggl.-Höhe nach 18—24 Std.



Kurve IV.

Kaninchen-Serum St. 3 Sp. Agglutination Keck.

zwei Stunden wie nach 24 Stunden Beobachtungszeit, so groß, daß es scheint, als ob man ein ganz anderes Serum vor sich hätte. Wie aus den Tabellen 1 und 2 und den Kurven III und IV hervorgeht, war es früher ein fast allgemein wirkendes Serum, während es jetzt gegenüber 16 Stämmen nach 2 Stunden und gegenüber 12 sogar nach 24 Stunden versagt. Auffallenderweise ist es zugleich merklich wirksamer gegen die Stämme 9, 12, 29, 33, 35, 41 geworden. Bereits nach zwei Stunden zeigt sich jetzt jene Agglutinationshöhe, welche sich früher zumeist erst nach 24 Stunden einstellte. Eine Steigerung der Agglutinationshöhe dieser Stämme nach 24 Stunden erfolgte nicht, es handelte sich also jetzt nur um eine Beschleunigung der Reaktion.

Ein ähnliches Verhalten zeigt Serum

St. 21 S „alt“. Auch hier ist mit einem Verlust der Titerhöhe von 1 : 8000 auf 1 : 4000 ein Rückgang der Wirkungsweise verbunden: früher waren nach zwei Stunden nur 21 und nach 24 Stunden nur 11 Stämme nicht genügend agglutiniert, jetzt sind es 30 bzw. 15. Diesem Verlust an Wirksamkeit stehen bei diesem Serum keine Beobachtungen von höherer oder rascherer Beeinflussung gegenüber. Das praktische Ergebnis ist bei diesem Serum das gleiche wie bei dem Serum (St. 3 Sp.).

Das Serum St. 28 Sch „alt“ hatte seinen alten Titer 1:8000 bewahrt; ja seine Beeinflussung der Pa.-B.-Stämme war eine stärkere geworden. Wenn früher 22 bzw. 11 Stämme nicht diagnostiziert werden konnten, so sind diese Zahlen jetzt auf 15 bzw. 8 zurückgegangen. Merkwürdigerweise machen aber nicht nur die Stämme, welche früher zu niedrig agglutiniert wurden, heute der serologischen Diagnose Schwierigkeiten.

Von den früher gut beeinflußten Stämmen zeigen zwei, nämlich Stamm 15 und 41, eine Verlangsamung der Reaktion, und nur einer, Stamm 10, wird nunmehr selbst nach 24 Stunden nicht mehr agglutiniert.

Wenn wir unsere Beobachtungen an den vier neuerdings geprüften Seren zusammenfassen, so zeigt es sich, daß ein Serum (K. G. A.) sowohl in der Höhe des Titers als in der Größe der Reichweite ziemlich unverändert geblieben ist, daß ein anderes (St. 28 Sch „alt“) bei gleicher Titerhöhe eine bedeutende Zunahme der Reichweite zeigt, und daß zwei weitere Sera (St. 3, Sp. und St. 21 S „alt“) bedeutenden Titersturz und damit verbunden eine ziemlich hochgradige Einbuße der Reichweite erkennen lassen. Es scheint, daß es nötig ist, Sera, deren Titer stark gesunken ist, aus dem Betriebe zu nehmen, da ihre Reichweite nachgelassen haben kann und sie kein großes Vertrauen mehr verdienen.

IV. Der gleiche Pa.-B.-Stamm wird von verschiedenen Pa.-B.-Seren verschieden beeinflufst.

In dieser Behauptung tritt der Kernpunkt der Schwierigkeiten der Verwertung der Agglutinationsreaktion für die Diagnose der Pa.-B.-Bazillen besonders hervor. Aus allen unseren Unter-

Tabelle 3.

Stämme	2—4 stünd. Beobachtungszeit		18—24 stünd. Beobachtungszeit		Stämme	2—4 stünd. Beobachtungszeit		18—24 stünd. Beobachtungszeit	
	identifiziert mit ..... Seren	nicht identif. mit ..... Seren	identifiziert mit ..... Seren	nicht identif. mit ..... Seren		identifiziert mit ..... Seren	nicht identif. mit ..... Seren	identifiziert mit ..... Seren	nicht identif. mit ..... Seren
1	7	5	9	3	19	6	6	9	3
2	6	6	9	3	20	2	10	7	5
3	7	5	9	3	21	5	7	7	5
4	4	8	6	6	28	7	5	10	2
5	6	6	6	6	29	5	7	10	2
6	6	6	8	4	30	4	8	8	4
7	8	4	10	2	31	4	8	11	1
8	4	8	7	5	32	5	7	10	2
9	4	8	6	6	33	2	10	9	3
10	6	6	9	3	35	2	10	5	7
11	7	5	9	3	36	8	4	10	2
12	5	7	10	2	37	9	3	10	2
14	7	5	9	3	38	4	8	5	7
15	6	6	9	3	39	3	9	6	6
16	2	10	4	8	40	7	5	10	2
17	6	6	10	2	41	6	6	10	2
18	7	5	11	1	44	3	9	5	7

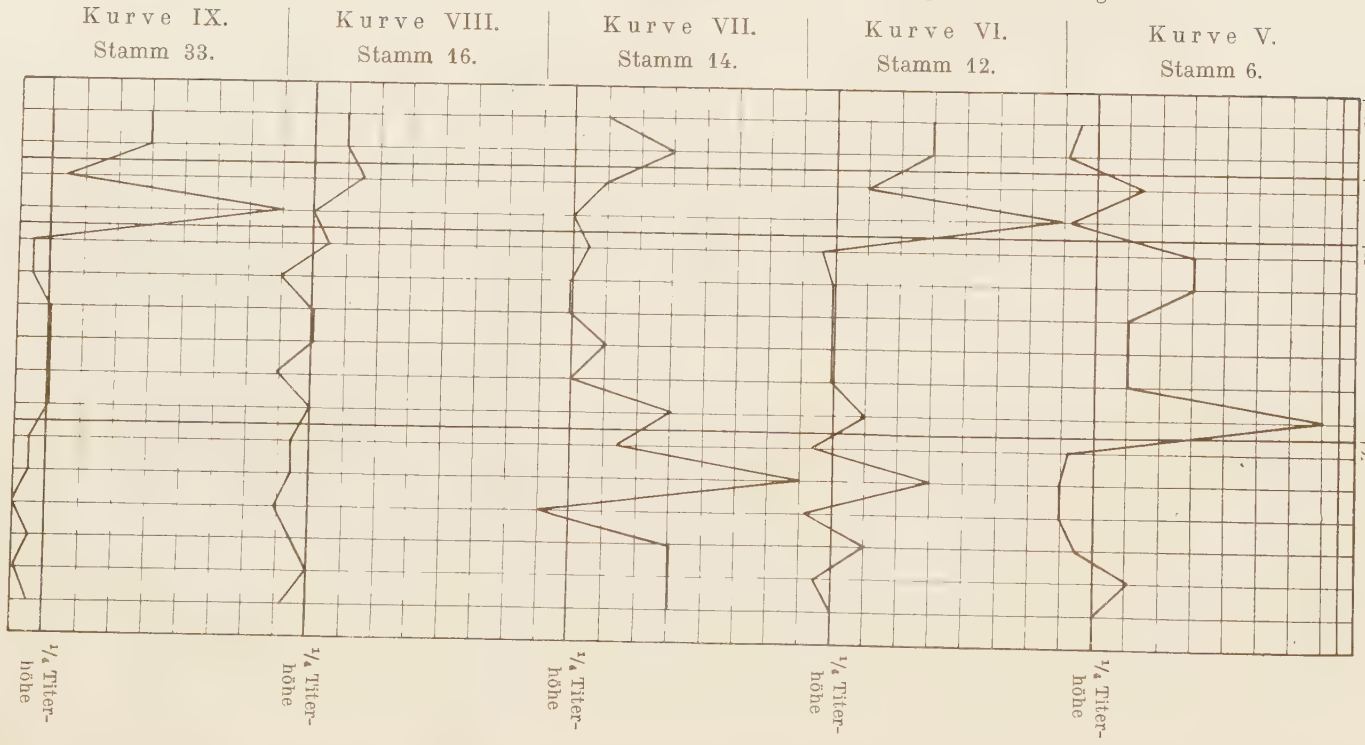
suchungen ergibt sich, wie aus den Tabellen 1, 2 und 3 zu ersehen ist, daß derselbe Pa.-B.-Stamm von einem Pa.-B.-Serum hoch agglutiniert werden kann, von einem anderen nur schwach und von einem dritten überhaupt nicht. In Tabelle 3 ist zusammengestellt, wie oft ein Stamm durch unsere 12 Sera nach 2- bzw. 24 stündiger Beobachtungszeit diagnostiziert werden kann. (Die Zahlen der Stämme 21 und 28 entsprechen nicht den wirklichen Schwierigkeiten, da in unseren Untersuchungen die Verwendung von je fünf homologen Seren eine zu große Anzahl hoher Agglutinationen bei diesen Stämmen vortäuscht.) Kein Stamm wird von allen Seren agglutiniert, selbst nicht bei 24 stündiger Beobachtungszeit. Die Schwierigkeiten der Identifizierung sind für die einzelnen Stämme verschieden; Stämmen, die nach zwei Stunden nur mit zwei Seren identifiziert werden, stehen solche gegenüber, bei denen die Identifizierung mit 9 Seren gelang; bei 24stündiger Beobachtungszeit schwanken

diese Zahlen zwischen 5 und 11. Man gewinnt einen Eindruck von der gewaltigen Verschiedenheit der Beeinflussung des gleichen Stammes durch die verschiedenen Sera, wenn man die Titerlinien der Stämme konstruiert. Bei der Verschiedenheit der Titer der einzelnen Sera müssen dabei die Agglutinationswerte, die mit diesem Stamme in den 12 Seren gewonnen wurden, auf eine gleiche Größe reduziert werden. Dies wird dadurch erreicht, daß der Titer eines jeden Serums gegenüber dem homologen Stamm als 100 angenommen wird. Ich beschränke mich auf die Wiedergabe von fünf besonders merkwürdig verlaufenden Titerlinien. Kurven V bis IX. Die Titerlinie des Stammes 14 ist ein Beispiel für den außerordentlich zackigen Verlauf solcher Kurven. Die Linie des Stammes 6 zeigt, daß dieser Stamm durch die Sera St. 21 S. gut, durch die Sera St. 28 Sch. nur schlecht agglutiniert wird; diejenige des Stammes 12 das umgekehrte Verhalten, nämlich hohe Agglutination mit den Seren St. 28 Sch und schlechte Agglutination mit den Seren St. 21 S. Die Stämme 16 und 33 sind, wie in den Titerlinien deutlich zu sehen ist, durch die Seren der beiden Gruppen nur schwach beeinflußbar, Stamm 16 ist überhaupt schwach beeinflußbar.

Den Grund der Nichtagglutination einzelner Stämme können wir bei unseren geringen Kenntnissen über das Wesen der Agglutinationsreaktion nicht erkennen; die Verhältnisse scheinen regellos zu sein, und doch ist es möglich, eine gewisse Zusammengehörigkeit einzelner Stämme herauszufinden. So fällt (Tabelle 2) auf, daß durch die Sera des Stammes 21 S. die Agglutination der Stämme 5 und 6 jedesmal innerhalb zwei Stunden bis zu starken Graden der Verdünnung erfolgt ist, daß ferner alle diejenigen Sera (mit alleiniger Ausnahme von Serum 42 (St. 28 Sch.), die Stamm 21 nicht agglutinieren, auch die Stämme 5 und 6 nicht agglutinieren. Ja diese anscheinende Zusammengehörigkeit der Stämme 5 und 6 einerseits und 21 anderseits wird durch das Verhalten des Serums St. 3 Sp. bei der ersten und bei der zweiten Agglutination noch auffälliger. Bei der ersten Agglutination konnten sowohl 5 und 6 wie 21 schon nach zwei Stunden diagnostiziert werden; bei der zweiten waren alle drei Stämme (allerdings neben anderen Stämmen) innerhalb 24 Stunden unbeeinflußbar. Trotz dieser Überein-

Kurve V—IX.

Titerlinien von 5 Stämmen bei 2stündiger Beobachtungszeit.



Serum K. G. A.	Rimpau
do.	Keck
Ser. St. 3 Sp.	Rimpau
do.	Keck
Ser. St. 21 S.	„alt“ Rimpau
do.	„alt“ Keck
do.	183
do.	190
do.	173
do.	„schwarz“
Ser. St. 28 Sch.	„alt“ Rimpau
do.	„alt“ Keck
do.	34
do.	27
do.	42
do.	80

stimmung der drei Stämme untereinander wäre es ungerechtfertigt, aus ihnen eine Sondergruppe zu bilden.

Auf das agglutinatorische Verhalten der Stämme 1, 4, 9, die sich kulturell von den anderen unterscheiden, sei hier noch hingewiesen. Bernhardt und Ornstein [18] [19] geben an, daß sie ein Übergreifen agglutinierender Eselsera auf atypische Stämme beobachteten, während Kaninchensera diesen gegenüber versagten. In der Tat werden auch alle unsere drei atypischen Stämme von unserem Hogcholera-Eselserum gut agglutiniert. Baerthlein [11], der allerdings auch nur ein Pa.-B.-Eselserum verwendete, gibt an, daß er kein abweichendes agglutinatorisches Verhalten der aufgefaserte, weinblattförmige Kolonien bildenden Pa.-B.-Stämme gefunden habe. Auch unsere drei kulturell abweichenden Stämme verhalten sich wie die anderen Stämme, nur sind sie durch alle Sera St. 21 S. nur schwer oder gar nicht zu diagnostizieren.

V. Probe-Agglutination.

Außer als Schlußreaktion findet die Agglutination noch als sogenannte orientierende oder Probeagglutination Anwendung. Sie wird bekanntlich in der Weise durchgeführt, daß etwas Kulturmasse in einem Tropfen einer schwachen Serumverdünnung (1 : 100) mit der Platinnadel verrieben wird. Es wird dann, wenn die verwendete Kultur von gleicher Art ist wie der Stamm, der zur Gewinnung des betreffenden Serums gedient hat, innerhalb kurzer Zeit — Bruchteil einer Minute bis 2 bis 3 Minuten — eine Flöckchenbildung bei Betrachtungen mit der Lupe sichtbar. Diese orientierende Agglutination ist ein wichtiges Hilfsmittel, wenn es gilt, verdächtige Kolonien auf Untersuchungsplatten zu finden. Es können z. B. auf einer Drigalski-Conradiplatte, die mit dem Stuhl von Pa.-B.-Kranken beschickt ist, eine große Anzahl blau wachsender, also verdächtiger Kolonien zu finden sein. Da es außer den Pa.-B.-Bazillen noch eine Reihe anderer Bakterien und darunter auch viele nicht pathogene gibt, die ebenfalls auf diesen Platten blau wachsen, so müßten wir, wenn wir die Probeagglutination nicht kennen würden, alle diese einzelnen Kolonien abstechen und auf ihr kulturelles und morphologisches

Verhalten prüfen. So aber sind wir durch den positiven Ausfall der Probeagglutination einer Kolonie mit großer Wahrscheinlichkeit imstande, nur Pa.-B.-Kolonien abzustechen und kulturell und morphologisch weiter prüfen zu müssen. Darin liegt für die Untersuchungsstationen, die zahlreiche Stuhluntersuchungen zu machen haben, eine wesentliche Vereinfachung der Arbeit. Allerdings ist bei der hohen Serumkonzentration natürlich eine Mitagglutination anderer Bakterien möglich; diese Mitagglutinationen lassen sich aber später leicht auf Grund der Ergebnisse der morphologischen und kulturellen Prüfung als solche erkennen.

Bei dieser Methode kommt in Frage, ob der Verlauf der Agglutinationsreaktion des betreffenden Stammes ein schneller oder langsamer ist. Es ist denkbar, daß ein Serum in geringen Verdünnungen einen Stamm schnell zur Agglutination bringt, ihn aber überhaupt nur in schwachen Verdünnungen agglutiniert. Dieser Stamm würde also durch die Probeagglutination mit diesem Serum als verdächtig erkannt, könnte aber infolge des negativen Ausfalls der Agglutination bei starken Verdünnungen schließlich doch nicht diagnostiziert werden. Umgekehrt könnte derselbe Stamm durch ein anderes Serum zwar noch in hohen Verdünnungen agglutiniert werden, aber so langsam, daß innerhalb kurzer Zeit selbst in der starken Konzentration 1 : 100 innerhalb kurzer Zeit keine Flöckchenbildung eintreten würde. Dieses Serum würde zwar die endgültige Diagnose des Stammes auf Grund der hohen Agglutination gestatten, bei der Probeagglutination dagegen seine Kolonien als unverdächtig erscheinen lassen. Die unrichtige Anwendung dieser Sera würde also zu einer Fehldiagnose führen, während beide bei richtiger Anwendung vorzügliche Dienste leisten können.

Von diesem Gesichtspunkte aus sind unsere sämtlichen 12 Sera mit den 34 Pa.-B.-Stämmen auch auf ihr Verhalten bei der orientierenden Agglutination geprüft worden.

Unsere Erwartungen bezüglich eines Auseinandergehens der Resultate beider Agglutinationsmethoden wurden erfüllt. In der Tabelle 4 sind die Ergebnisse angegeben. Wir finden zwei Sera, welche alle 34 Stämme orientierend zur Agglutination bringen. Daß das hochwertige und allgemein wirksame Serum des K. G. A.

Tabelle 4.

Ergebnisse der orientierenden Agglutination.

(Serumverdünnung 1 : 100.)

Paraty B.-Stämme	Hogch. Es.-Ser. K. g. A $^1/_{20\,000}$	Kaninch.-Ser. Stamm 3 Sp.	Kaninchen-Sera mit Stamm 21 S. herg.					Kaninchen-Sera mit Stamm 28 Sch. herg.					Nicht identifiz. mit ... Seren
			alt	183	190	173	schw.	alt	34	27	42	80	
1	+	+	+	⊢	+	+	⊢	+	+	+	+	+	
2	++	±	+	⊢	+	+	+	+	±	+	+	+	—
3	+	+	+	+	+	+	+	⊢	±	+	+	+	—
4	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	—
5	±	⊖	+	⊖	+	±	±	⊖	⊖	±	+	±	4
6	±	⊖	+	⊖	+	+	+	+	⊖	±	+	±	3
7	+	⊖	±	+	⊖	⊖	⊖	+	⊖	+	+	+	5
8	⊢	⊖	+	+	+	+	+	+	⊖	+	+	+	2
9	+	+	+	⊢	⊢	+	+	±	⊢	+	+	+	—
10	+	+	+	⊖	+	⊖	+	±	⊖	⊖	⊖	+	5
11	+	⊖	+	±	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	+	+	7
12	+	+	+	±	+	±	+	+	⊖	+	+	+	1
14	+	±	+	⊖	⊖	⊖	⊖	+	⊖	+	±	+	5
15	+	±	+	⊖	+	⊖	⊖	+	⊖	⊖	⊖	+	6
16	+	⊖	+	+	+	+	+	+	⊖	+	+	+	2
17	+	⊖	+	⊢	+	+	+	±	⊖	+	+	+	2
18	+	+	+	⊖	±	⊖	⊖	+	⊖	±	+	+	4
19	+	⊖	+	⊖	±	⊖	⊖	+	⊖	+	+	+	5
20	+	±	+	+	⊖	+	+	+	±	+	+	+	1
21	+	±	+	+	+	+	+	+	⊖	+	+	+	1
28	±	⊢	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	—
29	+	+	+	⊖	±	⊖	±	+	⊖	+	±	+	3
30	⊢	+	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	9
31	+	+	+	⊖	⊖	±	⊖	⊖	⊖	±	+	⊖	6
32	+	+	+	⊖	+	⊖	⊖	+	⊖	+	⊖	+	5
33	+	+	+	+	±	+	±	+	⊖	+	+	+	1
35	+	+	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	±	+	7
36	+	⊖	⊢	⊖	+	⊖	+	+	⊖	+	+	+	4
37	+	+	+	+	±	⊖	⊖	+	⊖	+	+	+	3
38	+	⊖	+	+	+	+	+	+	⊖	⊢	+	+	2
39	+	+	+	+	⊖	±	+	+	⊖	+	+	+	2
40	+	±	+	+	±	⊖	⊖	+	⊖	+	±	±	3
41	+	+	+	+	+	+	+	+	⊖	+	+	+	1
44	+	+	+	+	+	+	+	+	⊖	+	±	⊢	1
Ser. vermag ... Stämme nicht zu identifizier.	—	10	—	13	8	14	12	5	27	5	4	2	

dies tut, wird uns nicht überraschen. Um so mehr aber werden wir über das Verhalten des anderen Serums St. 21 S alt erstaunt sein. Dieses Serum läßt, wie früher angegeben worden ist, innerhalb zwei Stunden bei 30 Stämmen und innerhalb 24 Stunden bei 15 Stämmen die Diagnose Pa.-B. nicht zu. Bei der orientierenden Agglutination dagegen tritt mit allen Stämmen innerhalb kürzester Zeit typische Flöckchenbildung ein.

Als ein sehr allgemein wirkendes Serum konnten wir das Serum St. 21 S. Schwarz erkennen. Es versagt nur bei 12 Stämmen bei zweistündiger und nur bei drei Stämmen bei 24 stündiger Beobachtungszeit. Nach der Wirksamkeit der Probeagglutination dagegen ist das Serum unter 12 Seren an die neunte Stelle zu setzen.

Auf ein merkwürdiges Verhalten möchte ich noch kurz aufmerksam machen. Einzelne Stämme machen, wie oben gezeigt, besondere Schwierigkeiten. So konnte z. B. Stamm 4 durch keines der Sera „St. 21 S." und durch die Mehrzahl der Sera St. 28 Sch." nicht diagnostiziert werden, dieser Stamm wird aber durch alle diese und die übrigen Sera in der Probeagglutination beeinflußt. Ähnlich verhalten sich Stamm 16, der bei der orientierenden Agglutination nur zweimal und Stamm 44, der nur einmal versagt, während beide Stämme durch keines der Sera „St. 28 Sch." und nur durch wenige andere Sera als Pa.-B.-Stämme identifiziert werden können. Umgekehrt fällt die orientierende Agglutination bei Stamm 11 siebenmal negativ aus, obwohl dieser Stamm nur durch zwei Seren nicht diagnostiziert werden kann.

Es ist also gelungen, zuzeigen, daß die Kenntnis einer großen Reichweite eines Pa.-B.-Serums noch nicht zum Schluß auf eine Brauchbarkeit zur orientierenden Agglutination berechtigt, ja, daß ein zur diagnostischen Agglutination unbrauchbares Serum bei der Probeagglutination vorzügliche Resultate liefern kann. Die Bedeutung dieser Feststellung für die Laboratoriumspraxis ist ohne weiteres ersichtlich. Die Notwendigkeit der Anwendung der von Rimpau [3] für die Pa.-B.-Probeagglutination eingeführten Mischsera wird durch diese Untersuchung erneut bewiesen.

VI. Paratyphus C.

Uhlenhut und Hübener[21] haben zuerst die Beobachtung gemacht, daß gewisse kulturell zur Paratyphusgruppe gehörige Bazillen weder durch Pa.-B. noch durch Gärtner-Seren agglutiniert werden, und haben diese als eine besondere Gruppe Paratyphus C bezeichnet. Später hat Hübener[21] aus den Stühlen von Erkrankten Bazillen gezüchtet, die er zur Paratyphus-C-Gruppe rechnet. Auf Grund dieser Beobachtungen ist es Brauch geworden, serologisch nicht zu identifizierende Bazillen der Paratyphusgruppe als Paratyphus C zu bezeichnen. Rimpau hat als erster auf Grund eigener Beobachtungen und auf Grund der von verschiedenen Autoren [Loghem[1]), Sobernheim und Seeligmann[5]), Schern[4]), Stromberg[6])] veröffentlichten Angaben die Berechtigung der Aufstellung der Paratyphus-C-Gruppe bezweifelt. Er vermutet, daß sich die Zugehörigkeit der sogenannten Pa.-C.-Bazillen zur Pa.-B.-Gruppe durch Anwendung mehrerer verschiedener Pa.-B.-Seren auch serologisch werde einwandfrei nachweisen lassen. Diese Auffassung hat die vorliegende Arbeit als richtig erwiesen. Einmal durch die weitere Bestätigung der früheren Untersuchungsergebnisse Rimpaus[3]) über das verschiedene Verhalten von Pa.-B.-Stämmen verschiedenen Pa.-B.-Seren gegenüber und dann durch die von mir nachgewiesene Bedeutung der Tierindividualität für die Gewinnung agglutinierender Pa.-B.-Seren. Die Feststellung des Einflusses der Tierindividualität auf die Qualität des Serums, besonders die Erzeugung eines streng stammspezifischen Pa.-B.-Serums bei einem Kaninchen, läßt die Aufstellung einer Pa.-C.-Gruppe vorläufig als unberechtigt erscheinen.

Die praktische Bedeutung dieser Untersuchungen ist ohne weiteres klar. Wenn nämlich ein kulturell wie Paratyphus sich verhaltender Stamm vorliegt, der mit den angewandten Seren nicht agglutiniert wird und dessen zugehöriges Serum die angewendeten Pa.-B.-Stämme unbeeinflußt läßt, wird man auf Grund dieser Untersuchung noch immer annehmen dürfen, daß es

sich um einen Pa.-B. handelt, der durch Anwendung anderer Pa.-B.-Seren sich identifizieren lassen wird und dessen Serum sich als echtes Pa.-B.-Serum erweisen wird, wenn man es nur auf passende echte Pa.-B.-Stämme einwirken lassen würde.

Es ist hier auch darauf hinzuweisen, daß selbst der Umstand, daß das Serum des Patienten, aus dessen Stuhl der nicht agglutinierte Pa.-B.-Stamm gezüchtet ist, einen andern Pa.-B.-Stamm nicht agglutiniert, sondern nur den eigenen Pa.-B.-Stamm, nicht berechtigt, auf eine besondere Paratyphusgruppe zu schließen. Das Vorkommen derartiger stammspezifischer Agglutinationen ist bei Typhus-, Paratyphus- und Ruhrbazillen beobachtet worden, und für Paratyphus sei auf eine entsprechende Veröffentlichung von Rimpau (2) besonders hingewiesen. Auch der in der Sammlung mit Nr. 6 bezeichnete Stamm, dessen Identifizierung mit den damals angewendeten Seren Schwierigkeiten machte, wurde seinerzeit von dem Serum des Patienten in der Verdünnung 1 : 50 stark agglutiniert, während dieses Serum den Laboratoriums Pa.-B.-Stamm auch nach 24 Stunden unbeeinflußt ließ.

Also weder die vorgenommene Agglutination der betreffenden Stämme mit den verschiedenen Seren noch die Prüfung der mit den betreffenden Stämmen hergestellten Seren noch die Heranziehung der Gruber-Widalschen Reaktion sind imstande, bei den verwickelten Agglutinationsverhältnissen in der Paratyphusgruppe die Berechtigung zur Aufstellung des Paratyphus-C. zu erweisen.

Es erschien nun notwendig, gewissermaßen die Probe auf das Exempel zu machen und von anderen Autoren als Paratyphus-C. bezeichnete Stämme mit unseren zahlreichen Seren zu agglutinieren. In überaus liebenswürdiger Weise stellte Herr Professor Dr. W. Rosenthal die von Heimann (22) beschriebenen, im Göttinger Hygienischen Institut gezüchteten Stämme der Hildesheimer Epidemie und außerdem noch drei von Herrn Dr. Frei bei einer Fleischvergiftungsepidemie in Schwiegershausen gezüchtete und (angeblich) lediglich mit den für die Heimannschen Stämme spezifischen Seren agglutinierte Stämme zur Verfügung, ferner einen Stamm Paratyphus Rheidt, der aus

einer rheinischen Fleischvergiftung stammt und bei der serologischen Untersuchung Schwierigkeiten gemacht hatte. Außerdem stellte er uns das angewandte Pa.-B.-Serum und die Sera, welche mit den Hildesheimer Stämmen hergestellt waren, zur Verfügung.

An dieser Stelle sei noch einmal Herrn Prof. Dr. Reichenbach sowie Herrn Prof. Dr. W. Rosenthal unser Dank für das liebenswürdige Entgegenkommen ausgesprochen.

Auf Veranlassung von Herrn Direktor Dr. Rimpau habe ich Stämme und Sera genau geprüft. Über die ersten vier Stämme, die aus der Hildesheimer Epidemie stammen, ist aus der Arbeit von Heimann (22) folgendes anzuführen.

Zwei Stämme stammen aus Fleischproben, zwei aus den Stühlen Erkrankter. Das kulturelle Verhalten stimmt mit dem der Bakterien der Paratyphusgruppe überein. Die Stämme wurden von Heimann nur mit einem Typhus-Esel-, einem Paratyphus-A.-, einem Paratyphus-B.-Kaninchenserum (letzteres mit dem Titer 1 : 5000) agglutiniert, ferner mit einem Aertryck-Kaninchenserum und mehreren Enteritisseren, endlich mit zwei Seren, die mit zwei aus der Epidemie gezüchteten Stämmen gewonnen waren, angesetzt. Es trat eine Beeinflussung der Stämme der Epidemie nur durch die homologen Seren ein, eine schwache Agglutination fand auch noch mit dem Typhus-Eselserum statt; durch das Pa.-B.-Kaninchenserum wurden die Stämme nicht agglutiniert.

Sowohl die Hildesheimer als auch die drei Schwiegershäuser Stämme und der Stamm Rheidt wurden von mir zunächst über Drigalski-Conradiplatten geschickt; schon die orientierende Agglutination — mit den meisten der alten Rimpau schen Pa.-B. Seren in der Verdünnung 1 : 100 angesetzt — ergab, daß sämtliche Stämme mit gewissen Pa.-B.-Seren agglutiniert werden. Von den agglutinierenden Kolonien wurde auf Agar abgeimpft und von diesen Agarkulturen die kulturellen Proben angelegt und die Agglutination — angesetzt. Die Agglutination der Stämme erfolgte mit unseren Seren zum Teil dreimal. Auch die übersandten Sera wurden mit unseren sämtlichen Pa.-B.-Stämmen einmal durch-

agglutiniert. Selbstredend wurden bei allen diesen Versuchen Kontrollen mit Normalkaninchenserum und Cholera-Eselserum angesetzt. Sie fielen stets negativ aus.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 5 und 6 ersichtlich. Tabelle 6 zeigt für alle Stämme genau dasselbe Verhalten, wie es für die Pa.-B.-Stämme als typisch beschrieben ist, nämlich hohe Agglutination mit dem einen, geringe oder mangelnde mit einem andern Serum. Sämtliche Stämme sind also als Pa.-B.-Stämme serologisch nachgewiesen. Die mit diesen Stämmen hergestellten Sera, ebenso wie das von Heimann verwendete Pa.-B.-Kaninchenserum agglutinierten in gleicher Weise wie die oben besprochenen Pa.-B.-Seren einen Teil unserer Stämme hoch, einen anderen mittelhoch, einzelne gar nicht. (Tabelle 5.)

Durch diese Agglutinationsversuche ist einwandfrei nachgewiesen, daß diese als Paratyphus-C. bezeichneten Stämme Pa.-B.-Stämme sind.

Tabelle 5.

Serum	Serumtiter	Beobachtungszeit	Agglutin. bis Titergrenze 1	Agglutin. mittelstark 2	Agglutin. schwach 3	Keine Agglutin. 4	Nicht zu identifizieren waren (3+4)
Agglutin. Paraty-B.-Serum (Kaninchen) 1908	1:5000	2 h	5000–4000	3000–2000	1000	500–0	6
			8	20	5	1	
		24 h	18	15	—	1	1
Fleischvergiftungs-Serum Hildesheim (St. 58)	1:5000	2 h	5000–4000	3000–2000	1000	500–0	27
			1	6	15	12	
		24 h	1	11	14	8	22
Fleischvergiftungs-Serum Hildesheim (St. 119)	1:2000	2 h	2000	1000	500	100–0	19
			5	10	7	12	
		24 h	11	10	8	5	13

Tabelle 6.

Stämme		Zeit St.	Hogcholera Esels-Ser. KGA 1/20 000	Kan.-Ser. St. 28 Sch alt 1/8000	Kan.-Ser. St. 21 S alt 1/4000	Kaninch.-Serum St. 1, R. 1/4000	Kan.-Ser. St. 28 Sch 80 1/8000	Kan.-Ser. St. 28 Sch 42 1/9000	Kaninch.-Serum St. 3, Sp. 1/4000	Kan.-Ser. St. 21 S 173 1/8000	Kan.-Ser. St. 21 S Schwarz 1/8000	Kan.-Ser. St. 21 S 183 1/4000
Hildesheimer Stämme	V 22 1911	2	20 000	2000	⊖	4000	2000	2000	2000	⊖	500	⊖
		24	(40 000)	(4000)	(500)	(4000)	(2000)	(2000)	(4000)	⊖	(1000)	(⊖)
	V 23 1911	2	20 000	2000	100	1000	1000	500	8000	⊖	⊖	⊖
		24	(40 000)	(4000)	(500)	(1000)	(1000)	(2000)	(8000)	(1000)	(500±)	(⊖)
	V 54 1911	2	16 000	1000	500	500	4000	4000	2000	1000	500	2000
		24	(40 000)	(8000)	(1000)	(1000)	(4000)	(8000)	(10 000)	(4000)	(4000)	(2000)
	V 58 1911	2	16 000	2000	100	1000	1000	1000	2000	⊖	500±	⊖
		24	(20 000)	(2000)	(500)	(1000)	(1000)	(1000)	(2000)	⊖	(500±)	⊖
Stamm Rheidt		2	16 000	2000	8000	4000	1000	1000	2000	⊖	1000	1000
		24	(40 000)	(4000)	(8000)	(8000)	(2000)	(1000)	(4000)	(500)	(1000)	(1000)
Schwiegershäuser St.	V 67 1912	2	(40 000)	100±	4000	⊖	500	500	4000	500	500	2000
		24	(40 000)	(400±)	(4000)	(100)	(2000)	(1000)	(20 000)	(500)	(1000)	(4000)
	V 69 1912	2	40 000	8000	1000	1000	2000	500	4000	⊖	1000	2000
		24	(40 000)	(8000)	(1000)	(4000)	(2000)	(500)	(40 000)	(⊖)	(1000)	(2000)
	V 70 1912	2	40 000	4000	1000	1000	1000	⊖	4000	500±	2000	2000
		24	(40 000)	(4000)	(8000)	(4000)	(1000)	(2000)	(20 000)	(1000±)	(8000)	(4000)

Zusammenfassung.

1. Jedes unserer 12 geprüften Paratyphus-B.-Sera agglutiniert nur einen Teil der 34 verwendeten Pa.-B.-Stämme.

2. Jeder dieser 34 Pa.-B.-Stämme wird nur durch einen Teil der 12 verwendeten Pa.-B.-Sera agglutiniert.

3. Die verschiedene Wirksamkeit der Pa.-B.-Sera hängt ab
   a) Von dem zur Immunisierung verwendeten Stamm.
   b) Von der Individualität der immunisierten Tiere.
   c) Vom Alter des Serums.

4. Frisch gewonnene Pa.-B.-Sera können ihren Titer (auch ohne Zusatz von Konservierungsmitteln) kurze Zeit nach der Gewinnung fast völlig einbüßen, aber durch Lagerung im Eisschrank innerhalb weniger Wochen wieder gewinnen.

5. Ein Pa.-B.-Serum, das alle (diese 34) Stämme in der Probeagglutination beeinflußt, kann zur Austitrierung von Pa.-B.-Stämme brauchbar sein, aber auch nicht.

6. Der Begriff der Inagglutinabilität von Pa.-B.-Kulturen ist ein relativer, d. h. die Inagglutinabilität hängt von den verwendeten Seren ab.

7. Bei Verwendung vieler Pa.-B.-Sera gelingt es, sogenannte inagglutinable Paratyphusstämme (Paratyphus C) serologisch durch Agglutination als Paratyphus-B. zu identifizieren.

8. Die von Heimann als Paratyphus C. beschriebenen Erreger der Fleischvergiftungsepidemie in Hildesheim im Frühjahr 1911 konnten als Paratyphus-B.-Bazillen erwiesen werden.

Literatur.

1. van Loghem, Zentralbl. f. Bakt. Ref. Bd. 64.
2. Rimpau, Arbeiten a. d. K. G. A. 1909, Bd. 30, H. 2.
3. Rimpau, Arch. f. Hygiene, Bd. 76.
4. Schern, Zentralbl. f. Bakt., I. Orig., Bd. 61, H. 1/2.
5. Sobernheim und Seligmann, Zeitschr. f. Imm.-F. 1910, I. Bd. 6.
6. Stromberg, Zentralbl. f. Bakter., Bd. 58, H. 5.
7. Madsen, Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung von Kraus-Levaditi.
8. Kutscher und Meinicke, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.-Krankh. 1906, Bd. 52.
9. Trommsdorff, Arch. f. Hyg., Bd. 55.
10. Trommsdorff und Rajchmann, Zeitschr. f. Immunitätsf. I., Bd. 9.
11. Baerthlein, Arbeiten aus d. K. G. A. 1912, Bd. 40.
12. Weber und Händel, Berliner klin. Wochenschrift 1912, Nr. 47.
13. Seiffert und Wymer, Arch. f. Hyg., Bd. 76.
14. v. Dungern, Zentralbl. f. Bakt. I., Bd. 34, 1903 (zit. nach P. Th. Müller).
15. Eisenberg und Volk, Zeitschr. f. Hyg. und Infekt.-Krankh. 1902, Bd. 40 (zit. nach P. Th. Müller).
16. Böhme, Zeitschr. f. Hyg. und Infekt.-Krankh. 1906, Bd. 52.
17. Lentz, Zentralbl. f. Bakt., Ref. 1910, Bd. 47.
18. Bernhardt, Zeitschr. f. Hyg. und Infekt.-Krankh., Bd. 73.
19. Bernhardt und Ornstein, Berl. klin. Wochenschr. 1903, Nr. 1.
20. Uhlenhuth und Hübener, Arbeiten aus d. K. G. A. 1909.
21. Hübener, Med. Klinik 1909.
22. Heimann, Zentralbl. f. Bakt. I. 1912, Bd. 66.
23. Hübener, Fleischvergiftungen und Paratyphsuinfekt. Jena 1910.
24. Aumann, Zentralbl. f. Bakt. I. 1911, Bd. 57.
25. P. Th. Müller, Vorles. über Infekt. u. Immunität. Jena 1910.
26. Paltauf, Die Agglutination (Handbuch v. Kolle-Wassermann, II. Auflage 1913, Bd. 2).

Lebenslauf.

Ich, Albert Keck, wurde geboren am 27. Mai 1884 zu Augsburg als der Sohn des Bankagenten Albert Keck. Nach 4jährigem Besuch der Volksschule St. Georg in Augsburg studierte ich am k. hum. Gymnasium St. Stephan in Augsburg und absolvierte im Juli 1903. 1903 bezog ich hierauf die Universität München, wo ich bis Sommersemester 1906 blieb; nach bestandener ärztlicher Vorprüfung war ich im Sommer 1906 in Tübingen, von wo ich im Herbst 1906 wieder nach München zurückkehrte. Im Juni 1910 bestand ich die ärztliche Approbationsprüfung. Als Medizinalpraktikant war ich in der Anatomie, im Hygien. Institut und in der Kgl. Universitäts-Kinderklinik tätig. Nach Beendigung meines praktischen Jahres blieb ich in der Kgl. Universitäts-Kinderklinik als Volontärarzt tätig. Seit 1. Mai 1912 bin ich II. Assistent der Kgl. Bakteriologischen Untersuchungsanstalt in München.

München, den 29. März 1913.

Albert Keck.